

# Estudio y evaluación del potencial alimentario del alga verde *Ulva* spp. de los esteros gaditanos

Finí Sánchez García  
Tesis doctoral  
2020

Tesis doctoral  
2020

Estudio y evaluación del potencial alimentario  
del alga verde *Ulva* spp. de los esteros gaditanos

Finí Sánchez García

Diseño de nuevos productos

I+D+i

Patentes





**UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**

**“ESTUDIO Y EVALUACIÓN DEL POTENCIAL  
ALIMENTARIO DEL ALGA VERDE *Ulva* spp. DE LOS  
ESTEROS GADITANOS”**



**Tesis Doctoral**

Josefina Sánchez García

**Directores:**

Dra. Dña. Ana Roldán Gómez

Dr. D. Víctor Palacios Macías

Puerto Real, febrero de 2020

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS





## **TESIS DOCTORAL**

### **ESTUDIO Y EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ALIMENTARIO DEL ALGA VERDE *Ulva* spp. DE LOS ESTEROS GADITANOS**

---

### **STUDY y EVALUATION OF THE FOOD POTENTIAL OF THE GREEN ALGA *Ulva* spp. FROM THE EARTHEN PONDS OF CADIZ**

Josefina Sánchez García

Puerto Real, febrero de 2020







Dra. Ana Roldán Gómez y Dr. Víctor Palacios Macías, como Profesores Titulares del Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos,

CERTIFICAN:

Que la presente memoria titulada **“Estudio y evaluación del potencial alimentario del alga verde *Ulva* spp. de los esteros gaditanos”** que presenta Josefina Sánchez García, ha sido realizada bajo nuestra dirección y el trabajo presentado y las publicaciones que lo avalan no han sido utilizados en tesis de anteriores. Y considerando que representa el trabajo de Tesis Doctoral, autorizamos su exposición y defensa para optar al grado de **Doctor en Agroalimentación por la Universidad de Cádiz con Mención Europea**, cumpliendo los requisitos establecidos por la legislación vigente.

Fdo. Dña. Josefina Sánchez García

Puerto Real, a 24 de enero de 2020.

Fdo.: Dra. Dña. Ana Roldán Gómez

Fdo.: Dr. D. Víctor Palacios Macías

Fdo.: Dr. D. Luis Isidoro Romero García

Director del Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos

Universidad de Cádiz





La presente Tesis Doctoral se ha realizado con la financiación de un proyecto de excelencia de la Junta de Andalucía RMN-1235 denominado: *"Optimización de la recolección y el cultivo al aire libre de macroalgas destinadas a la industria alimentaria en esteros de la bahía de Cádiz. Potencial nutricional/gastronómico e implicaciones ambientales"*.





**“El descubrimiento es ver lo que todos han visto y pensar lo que nadie ha pensado”**

– Jonathan Swift, autor de Los viajes de Gulliver –

**“El camino es el que nos enseña la mejor forma de llegar y nos enriquece mientras lo estamos cruzando”**

– Paulo Coelho, autor de El Alquimista –

**“Aprender sin reflexionar, es malgastar energía”**

– Confucio, Maestro Kong, pensador chino –

**“Un país sin investigación es un país sin desarrollo”**

– Margarita Salas, investigadora española referente de todas las científicas –







## CONTENIDO





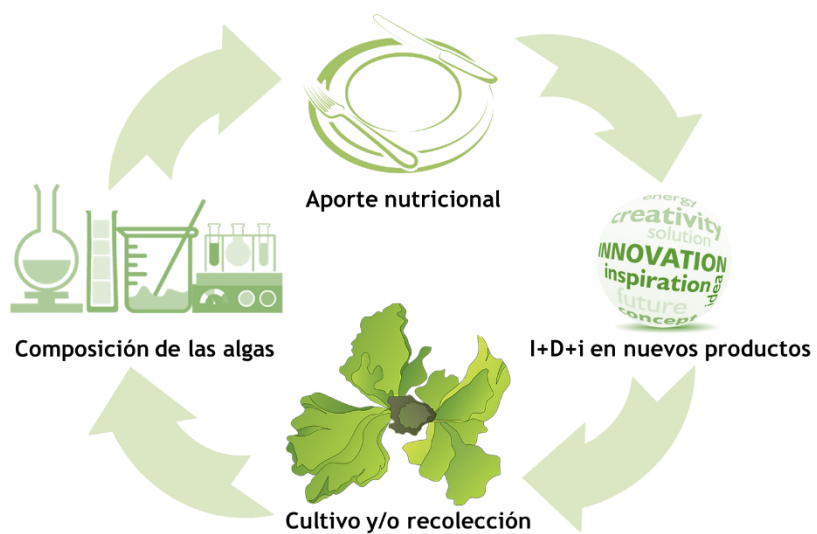
# Contenido

	<b>Resumen</b> .....	I
	<b>Abstract</b> .....	V
	<b>Abreviaturas y unidades</b> .....	IX
<b>Capítulo 1</b>	Introducción general y objetivos .....	1
<b>Capítulo 2</b>	Caracterización de las propiedades del alga verde <i>Ulva rigida</i> recolectada en los esteros gaditanos .....	51
<b>Capítulo 3.1</b>	Evaluación de la calidad, frescura y vida útil de <i>Ulva rigida</i> de estero por métodos físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales .....	97
<b>Capítulo 3.2</b>	Evolución de los compuestos volátiles y características sensoriales en <i>Ulva rigida</i> durante su almacenamiento.....	135
<b>Capítulo 4.1</b>	Efectos de los diferentes tratamientos de cocción en la composición de <i>Ulva</i> sp. de estero .....	161
<b>Capítulo 4.2</b>	Efectos de diferentes métodos de cocción en los compuestos volátiles y características sensoriales de <i>Ulva</i> sp. de estero .....	201
<b>Capítulo 5</b>	Desarrollo de nuevos productos a base de <i>Ulva</i> spp. de estero ...	229
<b>Capítulo 6</b>	Comparativa de <i>Ulva rigida</i> de estero con Ulvales de otras áreas y perspectivas futuras .....	277
<b>Capítulo 7</b>	Conclusiones .....	295
	<b>Contribuciones científicas</b> .....	301





## RESUMEN





## RESUMEN

Las algas marinas ofrecen gran riqueza nutricional, funcional, tecnológica y sensorial y están consideradas como un producto clave dentro de la búsqueda de nuevas fuentes de alimentación humana. Además, la creciente demanda de alimentos saludables, naturales y sostenibles ha promovido su interés culinario en los últimos años, llegando incluso a surgir recientemente una nueva tendencia conocida como “ficogastronomía”. En España, sin embargo, a pesar de su riqueza costera, las algas no son un elemento habitual de nuestra dieta y por lo tanto tampoco de nuestra gastronomía. No obstante, en los últimos años se está incrementando el interés por estos productos marinos para su consumo directo o como ingrediente en el desarrollo de nuevos productos. En Andalucía, y concretamente en la Bahía de Cádiz, se desarrollan algas como *Ulva* spp. en lugares como los esteros, zonas pertenecientes a antiguas salinas y, por tanto, con características ambientales particulares condicionadas por el sistema de producción de sal. En la presente Tesis Doctoral se propone la recolección y posible cultivo de la lechuga de mar (*Ulva* sp.) para consumo humano, y por ello, se han evaluado las propiedades nutricionales, funcionales, tecnológicas y sensoriales de esta especie en la zona, así como los parámetros que determinan su calidad y frescura y los efectos del cocinado sobre dichas propiedades. Además, se han determinado las posibles aplicaciones de esta alga en la formulación y desarrollo de nuevos productos.

Los resultados muestran como la *U. rigida* procedente de esteros es una fuente rica en proteínas, lípidos, ácidos grasos, aminoácidos y minerales, y presenta una alta capacidad de retención de agua y aceite, permitiendo su uso tanto para consumo directo como para la elaboración de productos a base de algas. Sin embargo, sus propiedades muestran cierta variabilidad a lo largo del año como consecuencia de la dinámica estacional de producción de sal. Del mismo modo, se ha determinado que la evolución y pérdida de calidad y frescura del alga es muy rápida y está condicionada por el método y condiciones de almacenamiento. Sin embargo, estos cambios se pueden ralentizar a bajas temperaturas retrasando los síntomas de deterioro hasta diez días, aunque con ligeras pérdidas de calidad del alga. Los tratamientos de cocción afectan considerablemente a la estructura celular, composición fisicoquímica y características



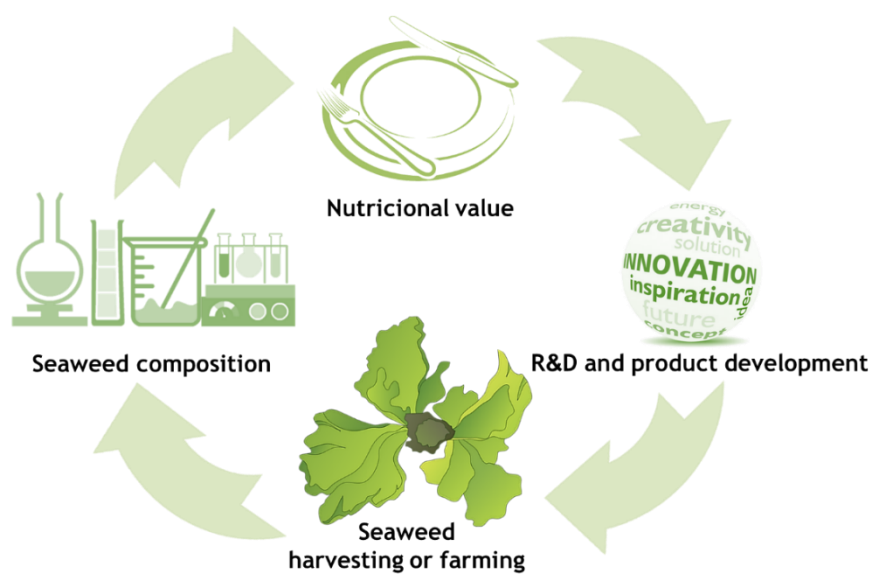
funcionales y sensoriales de *Ulva* sp. El método de cocción empleado y el tiempo y temperatura de tratamiento aplicado influyen en las modificaciones que sufre el alga. Así, la cocción por ebullición es el tratamiento más agresivo, mientras que el tratamiento al vacío respeta e incluso mejora las características nutricionales del alga cruda. Desde el punto de vista sensorial, el sabor y el aroma marino, característicos de la lechuga de mar, evolucionan rápidamente con los procesos térmicos, observándose dicha influencia no sólo desde el punto de vista organoléptico sino también desde el punto de vista analítico a través del análisis de sus compuestos volátiles.

Adicionalmente, debido a la riqueza nutricional, funcional, sensorial y posibilidades tecnológicas que se han determinado para *Ulva* sp. de estero, se han desarrollado productos a base de algas (mousse de algas, aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas, snack, pesto, galletas saladas y hamburguesa vegana) de gran aceptación por diferentes grupos de consumidores y posibilidades de comercialización.

Los resultados de esta Tesis Doctoral muestran, por tanto, la viabilidad de *Ulva* sp. de estero para consumo humano, tanto de uso directo como en la elaboración de nuevos productos nutritivos y saludables a base de algas. Además, sirven de base para promover el desarrollo de una industria sostenible en la Bahía de Cádiz basada no sólo en la recolección de esta especie sino también en su posible cultivo.



## ABSTRACT





## ABSTRACT

Marine algae offer great nutritional, functional, technological y sensory richness y are considered a key product in the search for new nutritional sources for human consumption. In addition, the growing demand for healthy, natural y sustainable foods has promoted culinary interest in marine algae in recent years, y even a new trend known as "phycogastronomy" has recently emerged. In Spain, however, despite its rich coastline, seaweed is not a regular part of our diet and, therefore, not of our gastronomy. However, in recent years, interest in these marine products for direct consumption or as an ingredient in the development of new products is increasing. In Andalusia, y specifically in the Bay of Cádiz, algae such as *Ulva* spp. are being developed in places such as earthen ponds, areas belonging to former salt mines and, therefore, with particular environmental characteristics conditioned by the salt production system. This doctoral thesis proposes the harvesting y possible cultivation of sea lettuce (*Ulva* sp.) for human consumption, y for this purpose, the nutritional, functional, technological y sensory properties of this species in the area have been evaluated, as well as the parameters that determine its quality y freshness y the effects of cooking on these properties. In addition, the possible applications of this seaweed in the formulation y development of new products have been identified.

The results show how *U. rigida* from earthen ponds is a rich source of proteins, lipids, fatty acids, amino acids y minerals, y has a high water y oil retention capacity, allowing its use both for direct consumption y for the manufacturing of products based on algae. However, its properties show some variability throughout the year as a consequence of the seasonal dynamics of salt production. Similarly, it has been determined that the evolution y loss of seaweed quality y freshness occurs very rapidly, depending on the method y conditions of storage. However, these changes can be decelerated at low temperatures delaying the symptoms of deterioration for up to ten days, albeit with slight losses in seaweed quality. Cooking treatments considerably affect the cell structure, physicochemical composition y functional y sensory characteristics of *Ulva* sp. The cooking method used y the time y temperature of the treatment applied influence the changes in the algae. Thus, boiling is the most aggressive treatment, while vacuum treatment respects y even improves the nutritional characteristics of raw seaweed. From

a sensory point of view, the taste y marine aroma, characteristic of sea lettuce, evolve rapidly with thermal processes, this influence being observed not only from the organoleptic point of view but also from the analytical point of view through the analysis of its volatile compounds.

Additionally, due to the nutritional, functional, sensory y technological possibilities that have been determined for *Ulva* sp. from earthen ponds, products based on seaweed (seaweed mousse, sherry vinegar dressing flavoured with seaweed, snacks, pesto, savory biscuits y vegan hamburgers) have been developed y are widely accepted by different groups of consumers, proving good marketing possibilities.

The results of this doctoral thesis show, therefore, the viability of *Ulva* sp. from earthen ponds for human consumption, both for direct use y in the development of new nutritious y healthy products based on algae. In addition, they serve as a basis for promoting the development of a sustainable industry in the Bay of Cádiz based not only on the harvesting of this species but also on its possible cultivation.



## ABREVIATURAS



## Abreviaturas

<b>AAETs</b>	Aminoácidos esenciales totales
<b>AANETs</b>	Aminoácidos no esenciales totales
<b>AATs</b>	Aminoácidos totales
<b>ACP</b>	Análisis de componentes principales
<b>AOAC</b>	<i>Association of Official Agricultural Chemists</i>
<b>a<sub>w</sub></b>	Actividad de agua
<b>CH</b>	Capacidad de hinchamiento
<b>Cl<sub>a</sub></b>	Clorofila a
<b>Cl<sub>b</sub></b>	Clorofila b
<b>Cl<sub>c</sub></b>	Clorofila c
<b>Cl<sub>d</sub></b>	Clorofila d
<b>CRA</b>	Capacidad de retención de agua
<b>CRAC</b>	Capacidad de retención de aceite
<b>DPPH</b>	Radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo
<b>EC50</b>	Concentración efectiva media
<b>ICP-MS</b>	Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente
<b>FAMEs</b>	Ésteres metílicos de ácidos grasos
<b>MUFAs</b>	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>N-BVT</b>	Nitrógeno básico volátil total
<b>N-TMA</b>	Nitrógeno de trimetilamina
<b>OD</b>	Oxígeno disuelto
<b>PF</b>	Peso fresco
<b>PS</b>	Peso seco
<b>PUFAs</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>SFAs</b>	Ácidos grasos saturados
<b>sp.</b>	Especie
<b>TEAC</b>	Capacidad antioxidante equivalente de Trolox





# Capítulo 1

## Introducción general



Anfínome, conocida como la nereida protectora de las algas, ilustración de Castillo y García (2018)

**Finí Sánchez García**

**Tesis Doctoral**

**Capítulo 1**



# INDICE

<b>1. Introducción general</b>	5
<b>1.1. Las algas marinas: Generalidades</b>	6
<b>1.2. Uso de las algas: Historia y actualidad</b>	10
<b>1.3. Propiedades nutricionales y funcionales de las algas</b>	13
1.3.1. <i>Proteínas, aminoácidos y pigmentos</i>	14
1.3.2. <i>Lípidos y ácidos grasos</i>	16
1.3.3. <i>Cenizas y minerales</i>	17
1.3.4. <i>Carbohidratos y fibra</i>	18
1.3.5. <i>Capacidad antioxidante</i>	19
<b>1.4. Propiedades tecnológicas de las algas</b>	20
<b>1.5. La gastronomía y la percepción sensorial de las algas</b>	21
<b>1.6. Desarrollo de nuevos productos a base de algas</b>	24
<b>1.7. Las algas de los esteros gaditanos</b>	26
<b>1.8. Objetivos</b>	35
<b>1.9. Bibliografía</b>	38
 Índice de figuras	48
Índice de tablas	48



## 1. Introducción general

En la actualidad uno de los principales problemas de la sociedad es conseguir alimentar a una población mundial cada vez más creciente (Palzer, 2009). Se calcula que en el año 2050 la cifra ascienda a 9100 millones de personas en el planeta, por lo que la producción de alimentos deberá duplicarse en las próximas cuatro décadas (Garcia-Vaquero *et al.*, 2017). Por otra parte, se prevé que en 2025, el clima y los problemas ambientales habrán aumentado a nivel mundial (Sundbo, 2016) y una décima parte de la superficie cultivable, se habrá perdido por erosión, desertificación o cambio climático (Kuczynski *et al.*, 2011). Ante este aumento de la población y escasez de alimentos, es necesario encontrar alternativas económicamente viables a las fuentes de proteínas de animales y vegetales de origen terrestre (Suresh Kumar *et al.*, 2014). Una de las alternativas con mayor potencial son los recursos alimentarios de origen marino (Mahalik y Kim, 2014). Los mares y océanos representan más del 70% de la superficie del planeta, motivo por el cual se le denomina habitualmente como el *Planeta Azul* (Figura 1.1.), color predominante cuando se observa desde el espacio.



**Figura 1.1.** Planeta Tierra observado desde el espacio.

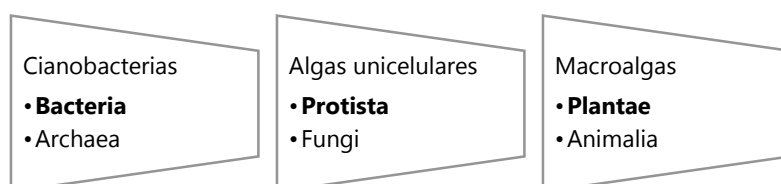
Esta gran extensión acuática alberga alrededor de un 15% de la biodiversidad total de la Biosfera (Pérez-Lloréns *et al.*, 2012). Según la WoRMS (*World Register of Marine Species*) hay aproximadamente 244.000 especies marinas aceptadas en 2018, de las cuales el 95% están verificadas (<http://www.marinespecies.org>). De este gran número de especies marinas, el cual aumenta alrededor de 4 especies por día, unas 30.000 corresponden a algas marinas (<http://www.algaebase.org/>), las cuales se distribuyen por la zona costera desde los trópicos cálidos hasta las aguas más frías de las regiones polares (Mouritsen, 2013). Las algas son dueñas de los fondos marinos desde los primeros tiempos hasta nuestros días, consideradas protectoras de vida y equilibrio en el gran ecosistema

marino. En una publicación reciente (Bengtson *et al.*, 2017), se ha demostrado que la vida multicelular avanzada evolucionó mucho antes de lo que se pensaba anteriormente. Científicos del Museo de Historia Natural Sueco han hallado fósiles de algas rojas con una edad aproximada de 1.600 millones de años, 400 millones de años más que los existentes de las plantas más antiguas (Bengtson *et al.*, 2017). Este hallazgo podría suponer una nueva calibración del inicio del árbol de la vida. Luego, las algas han sido y siguen siendo importantes en muchos ámbitos, llegando incluso a ser, probablemente, no sólo los organismos vivos más antiguos, sino que a su vez forman el primer eslabón de la cadena trófica marina (Persson, 1999).

### 1.1. Las algas marinas: Generalidades

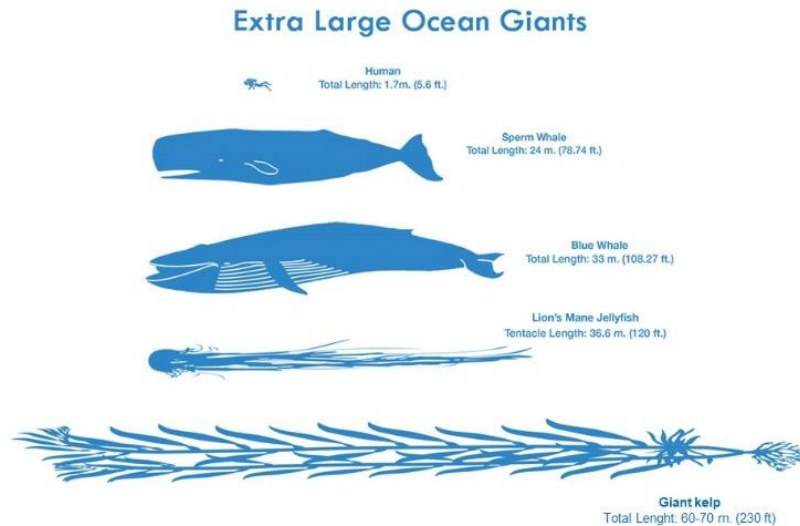
Las algas son organismos autótrofos fotosintéticos que pueden diferir entre sí en función del origen, la línea evolutiva, así como en los parámetros bioquímicos (Ibañez y Guerrero, 2017). Esta heterogeneidad hace que los organismos clasificados históricamente como algas puedan pertenecer a tres de los seis grandes reinos taxonómicos que se emplean hoy día para agrupar sistemáticamente a todos los seres vivos: Bacteria, Protista y Plantae (Tabla 1.1.; Ibañez y Guerrero, 2017):

**Tabla 1.1.** Reinos taxonómicos que recogen los diferentes tipos de algas existentes.



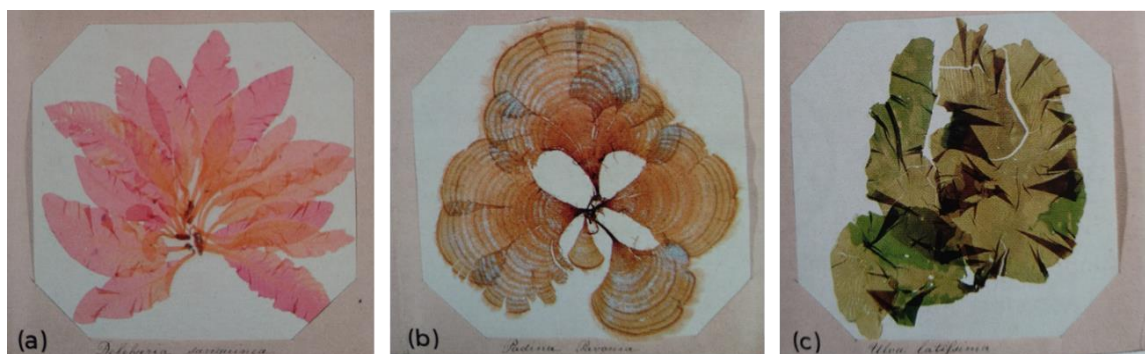
Esta variabilidad hace que se puedan encontrar algas con grandes diferencias morfológicas que van desde organismos unicelulares microscópicos a grandes organismos multicelulares filamentosos, simples o ramificados (Ibañez y Guerrero, 2017). Teniendo en cuenta sus características, una de las clasificaciones más comunes es por tamaño. En este caso las algas se pueden clasificar en dos grandes grupos: las microalgas, que son algas unicelulares y microscópicas, que incluyen principalmente especies fitoplanctónicas entre las que se encuentran *Chlorella* y *Spirulina* como algunas de las más conocidas; y las macroalgas, que son algas macroscópicas, pluricelulares y en

su mayoría bentónicas, que se suelen identificar con el término genérico algas o plantas acuáticas, y que pueden llegar a medir hasta 70 m (Ibañez y Guerrero, 2017), siendo por tanto, los seres vivos más grandes del océano, incluso más que la ballena azul (Figura 1.2.).



**Figura 1.2.** Ilustración de los seres vivos más grandes del océano (Cedida por Erasmo Macaya).

Todas las algas no son verdes, muchas de ellas, además del pigmento verde de la clorofila, poseen otros pigmentos que las ayudan a asimilar mejor la luz solar a diferentes profundidades del océano (Ramus *et al.*, 1976). Esta característica hace que las algas también se puedan clasificar en tres grandes grupos en función de su color o pigmentación predominante: algas rojas o rodofitas (Rhodophyta), de las cuales se conocen unas 6.500 especies; algas pardas o feofíceas (Phaeophyceae) en el que se agrupan 1.800 especies; y algas verdes o clorofitas (Chlorophyta), que suponen sólo un 10% de las algas marinas, es decir, unas 1.500 especies (Figura 1.3.).



**Figura 1.3.** *Delesseria sanguinea* (rodofita) (a), *Padina pavonia* (feofícea) (b), *Ulva latissima* (clorofita)(c). Ilustraciones tomadas de Pérez-Lloréns *et al.*, 2016).



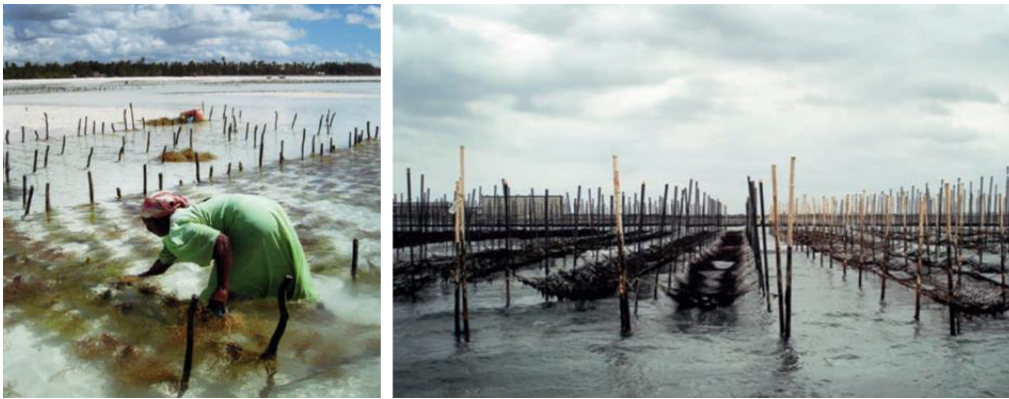
Además de su clasificación por tamaño o color, las algas también pueden diferenciarse por otras características menos evidentes como pueden ser las estructurales o morfológicas y las bioquímicas, entre las que destacan productos de reserva, constituyentes de la pared celular, presencia o ausencia de flagelos, estructura del cloroplasto, etc. (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). Las algas presentan características únicas que las diferencian de otros organismos vivos, y poseen una gran capacidad de adaptación a las condiciones ambientales que van a influir significativamente en la productividad de las mismas (Figura 1.4.). La adaptación a estos parámetros las hace capaces de producir un alto contenido de sustancias biológicamente activas (Ibañez y Guerrero, 2017).



**Figura 1.4.** Principales parámetros que influyen en la productividad de las algas, modificado de Ibañez y Guerrero, 2017).

Esta capacidad de adaptación permite que crezcan en abundancia en su hábitat natural y también a gran escala en acuicultura manipulando las condiciones de cultivo (Ibañez y Guerrero, 2017). Para su cultivo no necesitan fertilizantes artificiales ni limpieza del agua, y el impacto ambiental que produce es mínimo (Mahalik y Kim, 2014), convirtiéndolas en una fuente de recursos sostenibles (Figura 1.5.).

A nivel mundial el 96% de las algas recolectadas se producen por acuicultura (Rioux *et al.*, 2017), siendo uno de los cultivos más extensos que existen (Mouritsen, 2013). El cultivo se realiza aproximadamente en 40 países, de los cuales el 95% proviene de Japón, China, Corea del Norte, Corea del Sur, India, Filipinas, Chile, Indonesia, Estados Unidos y Noruega (Craigie, 2011).



**Figura 1.5.** Acuicultura de algas en Zanzíbar (izquierda) y Tokio (derecha), tomadas de Mouritsen *et al.*, 2013.

Sin embargo, en Europa el 95% de las algas que se comercializan se recolectan del medio natural. En Francia, *Laminaria digitata* es la especie más recolectada llegando a 60.000 toneladas en peso fresco (Pévet *et al.*, 1981) y sólo la especie, *Undaria pinnatifida*, introducida en el lago Thau en 1970, tiene una producción de cultivo (Fleurence, 2016). En 2016, las algas recolectadas tanto de cultivo como salvajes alcanzaron 30,1 millones de toneladas (FAO, 2018), suponiendo un ascenso del 45,6% con respecto a 2010, donde se alcanzaron las 19,9 millones de toneladas. El 40% de la producción total representa las especies consumidas en oriente sobre todo en Japón, desde la antigüedad, como son Kombu (*Saccharina japonica*), Wakame (*Undaria pinnatifida*) y Nori (*Porphyra* sp.) (Ing *et al.*, 2010). Globalmente, el 13% de las algas recolectadas se emplea para la producción de hidrocoloides (polisacáridos) tales como agar, alginatos y carragenanos, mientras que el 75% se usa en alimentación y el 12% restante en agricultura (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016).

Las algas son recursos que pueden aportar tanto compuestos importantes desde el punto de vista nutricional como de sustancias bioactivas (Harnedy y FitzGerald, 2011). Por lo tanto, las algas pueden tener aplicaciones tanto para su consumo directo (Cornish *et al.*, 2017; Mouritsen *et al.*, 2013) como para la extracción de diferentes compuestos como ficococoloides y compuestos bioactivos (pigmentos, nutraceuticos, antioxidantes, antimicrobianos, etc.) (Harnedy y FitzGerald, 2011; Peinado *et al.*, 2014; Roohinejad *et al.*, 2017; Thahira Banu *et al.*, 2015; Wells *et al.*, 2017), de aplicación en campos tales como la cosmética (Pereira *et al.*, 2013; Rupérez *et al.*, 2002), farmacia (Kannan *et al.*, 2013; Plaza *et al.*, 2010), medicina (Dillehay *et al.*, 2008; Nirmal-Kumar *et al.*, 2010), desarrollo de nuevos alimentos e ingredientes funcionales (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2015; Roohinejad *et al.*, 2017; Thahira Banu *et al.*, 2015) y, más recientemente, en

gastronomía (Mouritsen, 2012; Pérez-Lloréns *et al.*, 2016; Pina *et al.*, 2014; Rioux *et al.*, 2017).

## 1.2. Uso de las algas: Historia y actualidad

Aunque en la actualidad, existe aún desconocimiento de las algas a nivel global, la utilización de las mismas tanto en alimentación como en la industria se remonta muchísimos años atrás (Ibañez y Guerrero, 2017). En la Tabla 1.2. se muestran aplicaciones históricas de las algas para los humanos como puede ser su uso para transportar agua (35000 a.C.) o su uso en medicina en la antigua Grecia (0-300 d.C.), hasta aplicaciones más recientes como la extracción de polisacáridos bioactivos como el fucoidan (1970) o avances genéticos en especies comerciales para aumentar su producción (2010).

En relación al consumo de algas tanto en Corea como en Japón se han datado residuos de algas pardas de diferentes especies (*Undaria* sp., *Hizikia* sp. o *Sargasum*) en restos arqueológicos de alimentos de más de 10.000 años a.C. (Nisizawa *et al.*, 1987; Pérez, 1997). Sin embargo, el uso más antiguo documentado del consumo humano de algas marinas data del 13.000 a.C. en el sur de Chile (Dillehay *et al.*, 2008). Existe un diccionario japonés con fecha de 934 a.C., donde aparecen descritas hasta 21 especies de algas comestibles (Mouritsen, 2013) y se conoce que al menos 40 especies se consumían de diferentes formas (crudas, horneadas, en escabeche o mezcladas con otros alimentos) en Hawái y otras islas polinésicas durante miles de años (Mahadevan, 2015). En Europa, especialmente Irlanda, Gales, Escocia, Bretaña, Islandia y Noruega tienen conexiones históricas con las algas marinas, que a lo largo de la historia han sido un importante factor socioeconómico (Mouritsen, 2013). El inicio de su consumo fue en el siglo XV, y a diferencia de los países orientales, en la cultura occidental, sobre todo en poblaciones litorales, el consumo de algas era sinónimo de penuria (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). Sin embargo, se cuentan historias que las sitúan con anterioridad, como puede ser el uso de Dulse (*Palmaria palmata*) en zonas costeras de Irlanda en el siglo V, como condimento con pan, mantequilla y leche (Rhatigan, 2009) o donde monjes irlandeses del siglo XII recolectaban Dulse para su distribución a los pobres, que probablemente lo comieron por falta de algo mejor (Mouritsen, 2013).

**Tabla 1.2.** El uso de algas marinas por los humanos a lo largo del tiempo con un enfoque en la trayectoria de la historia moderna de la investigación y la industria de las algas, modificada de Winberg *et al.*, 2014.

Periodo	Estado o etapa de desarrollo en investigación e industria de algas aplicadas
35000 a.C.	Los habitantes de Tasmania usan algas marinas para transportar el agua (Alexander, 2006)
13000 a.C.	La antigua civilización de Chile usa las algas marinas con propósitos nutricionales y saludables (Dillehay <i>et al.</i> , 2008)
0 a 300	Los griegos usan algas marinas en medicina (Rindi <i>et al.</i> , 2012)
	Los romanos (Columela y Paldeus) usan algas marinas como potenciadores de los nutrientes del suelo (Henderson, 2004)
	China – Algas marinas usadas como suplemento del yodo (Volpe y Sawin, 2011)
	Japón – Algas marinas usadas como alimento (Elisabeth Mann, 1980)
1700	Se descubren las propiedades higroscópicas de las algas marinas (Johnson, 1990)
1940	Desarrollo industrial de hidrocoloides de algas marinas; biología de las algas marinas; investigación sobre algas marinas como alimento (Craigie, 2011; Tseng, 1944)
	Cultivo de <i>Porphyra</i> en Japón (Harris <i>et al.</i> , 2013)
	Uso del extracto líquido de algas pardas como biofertilizantes (Chan <i>et al.</i> , 2006)
1950	Primer Simposio Internacional de Algas Marinas (Escocia), (Chan <i>et al.</i> , 2006; Chengkui, 1984)
	Cultivo en balsas de <i>Laminaria</i> en China (Chengkui, 1984)
1960	Más investigación sobre la clasificación taxonómica, biogeográfica y ecofisiológica (Chan <i>et al.</i> , 2006)
1970	Primeros estudios sobre los polisacáridos bioactivos de Fucoidan; Cultivo basado en tanques desarrollado en Canadá para asegurar la fuente de carragenanos de <i>C. crispus</i> (Moseley, 1990)
	Desarrollo de técnicas de micropropagación (Reddy <i>et al.</i> , 2008)
1980	Avances en el cultivo de las algas marinas y en la biotecnología (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	Estudios sobre las propiedades de los hidrocoloides (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	Descubrimiento de fármacos y compuestos bioactivos (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	Estudios de genética clásica y mutantes (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	La acuicultura de algas en China alcanza más de 1 millón de toneladas al año (Chengkui, 1984)
	El cultivo de carragenanos de las algas marinas se introduce en Indonesia y África (Hurtado <i>et al.</i> , 2013; Reddy <i>et al.</i> , 2008)
1990	Cultivo de tejidos, filogenética molecular, transformación genética, clonación y caracterización de genes (Chan <i>et al.</i> , 2006)
2000	La tecnología de micropropagación se expande (Reddy <i>et al.</i> , 2008)
	Marcadores genéticos y primeros marcadores de ADN de algas publicados (Halling <i>et al.</i> , 2013)
	Introducción de la etiqueta de secuencia expresada (Halling <i>et al.</i> , 2013)
	Evidencia de la bioactividad de los polisacáridos sulfatados de algas (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	Búsqueda de una planta modelo para el estudio genómico a gran escala (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	Ingeniería química para productos de alto valor o biocombustibles en un enfoque de biorrefinería (Chan <i>et al.</i> , 2006)
	<i>Porphyra</i> propuesta como organismo modelo y candidato para la secuencia del genoma (Chan <i>et al.</i> , 2006)
2010	Primer genoma de algas modelo secuenciado – el alga parda <i>Ectocarpus</i> (Cock <i>et al.</i> , 2010)
	Herramientas genéticas aplicadas para reclasificar la taxonomía de algunas de las especies de mayor interés comercial (Sutherland <i>et al.</i> , 2011)
	Las algas, las técnicas moleculares y la glicobiología se unen (Sutherland <i>et al.</i> , 2011)
2013	Genoma de <i>Chondrus crispus</i> (alga roja) secuenciado (Collén <i>et al.</i> , 2013)
2017	Auge en el consumo de algas por programas de televisión, blogs y recetas organizadas por varios chefs de renombre, que destacan sus aplicaciones culinarias, tanto por su aporte nutricional como sensorial (Rioux <i>et al.</i> , 2017)
2019	Fucoidan obtenido de las algas pardas considerado como un producto para la prevención y tratamiento de la diabetes mellitus (Mukhamejanov <i>et al.</i> , 2019)

En Noruega, Dulse se consumía desde la época de los vikingos, ya que se ha demostrado que trajeron algas secas con ellos como provisiones para sus largas expediciones (Mouritsen, 2013). Las algas estaban clasificadas como productos estacionales en el consumo casero y su venta era local, con lo que las cantidades estaban limitadas y su venta era limitada debido a que, fuera de estas localidades, no existía demanda (Tiwari y Troy, 2015).

En la actualidad se puede encontrar venta ambulante de Dulse en Irlanda y Gales, donde elaboran el "laverbread" con el alga roja "Laver" (*Porphyra*), es una especie de puré rico en sales minerales (hierro y yodo), el cual se toma para desayunar con bacón y berberechos y es consumido desde la antigüedad por mineros (Mahadevan, 2015; Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). También hay escritos que muestran el consumo de algas rojas en Islandia desde el siglo X, junto con los noruegos, los islandeses consumían Dulse fresca al horno con pan y Dulse deshidratada y salada como aperitivo (Mahadevan, 2015). En Oriente, la cultura y su evolución histórica en el consumo de algas ha conllevado a que en la actualidad las algas marinas sean un producto de gran tradición en los países asiáticos como Japón, China o Corea (Murata y Nakazoe, 2001; Nisizawa *et al.*, 1987) constituyendo al menos el 20% de la ingesta alimentaria diaria (Tabla 1.3.). Aquí las algas están consideradas como un alimento popular de excelente sabor y valor nutricional, llegando a superar el valor comercial de algunas carnes o pescados (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). En Occidente, por el contrario, no se llega al 1% de consumo anual (Tabla 1.3.) y éste se limita a determinadas zonas costeras (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016; Polat y Ozogul, 2013), siendo Irlanda y Francia los países que más han incorporado las algas a su dieta (Mouritsen, 2013).

**Tabla 1.3.** Consumo anual de algas en distintos países. Datos en toneladas de peso seco y lo que representa en porcentaje consumido sobre el total recolectado en el país, datos tomados de Pérez-Lloréns *et al.*, 2016.

País/Zona	Consumo (toneladas peso seco)	Porcentaje
Japón	97.000	97%
China	71.000	49%
Corea	10.000	93%
Taiwán	3.000	-
Norteamérica	240	<1%
Europa	97	<1%

En Europa, el reglamento CE 178/2002, que deroga al CE 258/97 y a la recomendación 97/618/CE, considera como nuevos alimentos a las algas y sus derivados, teniendo que someterse a un proceso de evaluación comunitario antes de su comercialización (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). Francia es la más avanzada en aspectos legislativos en relación al consumo de algas, ya que fue pionera en su uso culinario. En 1990, la Academia Nacional de Medicina y el Consejo Superior de Higiene Pública de Francia autorizaron 11 especies de algas como verduras del mar para su uso directo o como ingredientes en la alimentación humana. Posteriormente se autorizaron otras dos especies de macroalgas como *Porphyra umbilicalis* y *Palmaria palmara* y se definieron los criterios de calidad microbiológicos (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, total de bacterias o patógenos) y los niveles máximos de minerales tóxicos (As, Cd, Hg, Pb, Sn y I) que deben cumplir las algas para ser consideradas alimentos seguros antes de su comercialización (AESAN-2012-003, Martínez de Victoria-Muñoz, *et al.*, 2012). El nivel máximo para el arsénico inorgánico (As) es 3 mg kg<sup>-1</sup> (peso seco), para cadmio (Cd) 0,5 mg kg<sup>-1</sup> (peso seco), para mercurio (Hg) 0,1 mg kg<sup>-1</sup> (peso seco), para plomo (Pb) 5 mg/kg (peso seco), para estaño (Sn) 5 mg kg<sup>-1</sup> (peso seco) y la concentración máxima de yodo (I) es de 2000 mg kg<sup>-1</sup> (peso seco) (Fleurence, 2016). En cuanto al resto de países, exceptuando Bélgica, no tienen legislación específica por lo que recurren a la ley francesa (Mouritsen, 2013) o en su defecto, la que se emplea en la depuración de mariscos y bivalvos para su consumo en crudo (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016).

### 1.3. Propiedades nutricionales y funcionales de las algas

Aunque existen varias especies que se cultivan hoy en día, las algas son recursos naturales procedentes del mar y con una proporción correcta de proteína vegetal de alto valor biológico (están presentes todos los aminoácidos esenciales en cantidades importantes) (Harnedy y FitzGerald, 2011), bajo contenido en grasa, contenido mineral superior a los que aportan los alimentos terrestres, cantidades adecuadas de vitaminas, ricas en fibra y ácidos grasos poliinsaturados (Kendel *et al.*, 2015; Matanjun *et al.*, 2009), además de contener cantidades abundantes de sustancias antioxidantes (Khairy y El-Sheikh, 2015; Kumar *et al.*, 2011a).

Todas estas propiedades aportan beneficios tanto desde el punto de vista nutricional como para la salud (Boulom *et al.*, 2014; Chan y Matanjun, 2017; Kendel *et al.*, 2015). Dependiendo de la especie, el agua representa el 70-90% del peso del alga (Dawczynski *et al.*, 2007). La composición química de las distintas especies puede variar mucho, pero las proporciones aproximadas son: 45-75% de carbohidratos y fibra, 7-35% de proteínas, menos del 6% de grasas y una gran cantidad de minerales y vitaminas diferentes (Mouritsen, 2013). Además, se ha demostrado con diferentes estudios que sus propiedades nutricionales y funcionales varían con la especie, el hábitat, estado de maduración, periodo de recolección y condiciones medioambientales y fisicoquímicas donde se desarrollen (Boulom *et al.*, 2014; Chan y Matanjun, 2017).

### 1.3.1. Proteínas, aminoácidos y pigmentos

Las proteínas están presentes en las algas en diversas formas y ubicaciones, como componentes de la pared celular, como enzimas o también uniéndose a pigmentos y carbohidratos (Tiwari y Troy, 2015). En general, la fracción proteica de las algas pardas es baja (3-15% del peso seco) en comparación con la de las algas rojas o verdes (10-47% del peso seco) (Arasaki y Arasaki, 1983; Fleurence, 1999). A excepción de la especie *Undaria pinnatifida* (wakame) que presenta un contenido proteico entre el 11 y el 24% (peso seco), la mayoría de las algas pardas que se explotan industrialmente (*Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* e *Himanthalia elongata*) tienen un contenido de proteínas inferior al 15% (peso seco) (Fleurence, 1999). En algunas algas verdes como las especies del género *Ulva*, el contenido de proteína puede representar entre el 10 y el 26% (peso seco) del alga. Por ejemplo, la especie *Ulva pertusa*, que el pueblo japonés consume con frecuencia con el nombre de "aonori", tiene un alto nivel de proteína, entre el 20 y el 26% (peso seco) (Fujiwara-arasakil *et al.*, 1984) (Tabla 1.4.).

La mayoría de las especies estudiadas contienen un contenido de proteínas similar a otros alimentos ricos en proteínas, utilizados tradicionalmente, como la soja, las leguminosas o los huevos (Fleurence, 2004). Además, la composición de aminoácidos de las algas marinas ha sido ampliamente estudiada mostrando un alto valor biológico debido a su alto contenido de aminoácidos esenciales (aproximadamente el 40% del total de aminoácidos, independientemente del *phylum*) (Couteau y Coiffard, 2016).

**Tabla 1.4.** Niveles de proteína en algunas algas marinas utilizadas por la industria alimentaria, datos tomados de Fleurence, 1999.

Alga (especie o género)	Clasificación	Proteína (% peso seco)
<i>Palmaria palmata</i>	Rodofita	8-35
<i>Porphyra tenera</i>	Rodofita	33-47
<i>Ulva lactuca</i>	Clorofita	10-21
<i>Ulva pertusa</i>	Clorofita	20-26
<i>Laminaria digitata</i>	Feofíceea	8-15
<i>Fucus</i> sp.	Feofíceea	3-11
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Feofíceea	3-15

La composición en aminoácidos depende de la zona donde se desarrollan (Dawczynski *et al.*, 2007) y de la estación del año (Fleurence, 1999). Estas diferencias podrían deberse a las variaciones en los tipos de proteínas presentes, influenciadas por los cambios en las condiciones ambientales, como la intensidad de la luz, la salinidad o la disponibilidad de nutrientes (Couteau y Coiffard, 2016). En general, todas las especies muestran un alto contenido en aspártico, alanina y ácido glutámico (Tiwari y Troy, 2015). Estos aminoácidos, aunque no son esenciales, son responsables de algunas características organolépticas de las algas como su sabor característico (Rossi, 2007).

Por otra parte, las algas marinas contienen una amplia variedad de pigmentos que absorben la luz para la fotosíntesis. Existen tres clases principales de pigmentos fotosintéticos que se encuentran en las algas: clorofilas, carotenoides (carotenos y xantofilas) y ficobiliproteínas (Tiwari y Troy, 2015). La diferencia entre los pigmentos que se pueden encontrar en las algas es debida a una adaptación ambiental, necesaria para optimizar la captación de luz para la realización de la fotosíntesis a diferentes profundidades (Tiwari y Troy, 2015). La clorofila, especialmente la clorofila a (Cla), es un pigmento principal en la mayoría de las algas marinas. Hay diferentes tipos de clorofila (Cla, Clb, Clc, Cld, etc.) que tienen estructuras similares: el componente principal es un anillo de porfirina y se diferencian por sus sustituyentes (Jeffrey y Humphrey, 1975; Rowan, 1989). Los carotenoides juegan un papel importante en la fotosíntesis, son una familia de pigmentos sintetizados responsables de los colores naranja, amarillo y rojo (Ibañez y Guerrero, 2017). Estos pigmentos se han descrito como potentes antioxidantes y se ha demostrado que poseen actividad anticancerígena (Miyashita, 2013) y pueden presentar una gran diversidad debido principalmente a factores medioambientales (temperatura, salinidad, cantidad de luz y disponibilidad de nutrientes del agua donde



se desarrollan) (McNulty *et al.*, 2008). Las ficobiliproteínas purificadas (ficocianina en algas verde-azules, ficoeritrina en algas rojas) se usan como colorantes alimentarios o en cosmética; además, el principal pigmento, denominado ficobilina, les aporta a las algas propiedades medicinales y farmacológicas (Ibañez y Guerrero, 2017).

### 1.3.2. Lípidos y ácidos grasos

Estudios previos han establecido que el contenido en lípidos en las algas, de forma general, se encuentra en un rango de 1-6% en peso seco (Rodrigues *et al.*, 2015). Sin embargo, se han encontrado valores de menos del 1% en varias especies rojas como *Nemalion vemiculare*, *Hyalosiphona caespitosa* o *Champia parvula* (Khotimchenko y Gusarova, 2004) e incluso se han referenciado valores del 20% en una especie de alga parda (*Dictyota sandvicensis*) (McDermid y Stuercke, 2003). Estas variaciones pueden deberse a los cambios estacionales, geográficos y a las condiciones de crecimiento entre otros (Melo *et al.*, 2015). Parece que el contenido en lípidos varía dependiendo principalmente de factores ambientales tales como temperatura del agua, nutrientes, pH, salinidad, intensidad de luz y profundidad. Guschina y Harwood (2006), determinaron que los lípidos totales disminuían al aumentar la profundidad, lo que podría estar vinculado con la intensidad de la luz, demostrándose una relación inversa con ésta (Khotimchenko, 2002). También se han estudiado ampliamente las variaciones estacionales del contenido en lípidos, aunque éste parece estar relacionado además por otros factores. Según Kumari *et al.* (2013), el contenido mínimo en lípidos totales en las especies *Undaria pinnatifida*, *Laminaria japonica*, *Fucus serratus*, *Egregia menziesii*, *Chondracanthus canaliculatus* y *Ulva lobata* se observó en verano, mientras que el contenido máximo se observa en otoño e invierno o en invierno y primavera. Otros estudios, sin embargo, mostraron el máximo contenido en verano para *Fucus serratus* (Kim *et al.*, 1996) y en *Undaria pinnatifida* (Gerasimenko *et al.*, 2011) o incluso ninguna variación estacional en otras especies como *Costaria costata*, *Jania Rubens*, *Laurencia papillosa* o *Padina pavonia* (Gerasimenko *et al.*, 2010; Polat y Ozogul, 2013). Por lo tanto, esas diferencias con respecto a las variaciones estacionales se deben a diversos factores como el estado fisiológico de las muestras, la variación de temperatura (Olischläger *et al.*, 2014) o incluso el mecanismo molecular de cada organismo para responder a factores ambientales (Guschina y Harwood, 2009) además de la especie. Las algas no se utilizan

como fuente de energía convencional debido al bajo nivel de lípidos. Sin embargo, las algas marinas contienen niveles significativamente más altos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que las hortalizas terrestres (Couteau y Coiffard, 2016), sobre todo de las series omega-3 y omega-6, que son considerados ácidos grasos esenciales, ya que no son biosintetizados por los mamíferos y deben ser tomados a través de la alimentación (Banskota *et al.*, 2014; Khotimchenko *et al.*, 2002). Las algas presentan un alto contenido en ácidos grasos omega-3 como  $\alpha$ -linolénico (C 18:3n-3), estearidónico (C 18:4n-3) y ácido eicosapentaenoico (C 20:5n-3); u omega-6 como el araquidónico (C 20:4n-6) (Dawczynski *et al.*, 2007; Murata y Nakazoe, 2001). Los beneficios de los PUFA, en particular el ácido eicosapentaenoico (EPA), el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido araquidónico (ARA) en la salud humana, están bien documentados (Larsen *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2002) y se estudian principalmente por su valor nutricional para consumo humano (Kilinc *et al.*, 2013). En cuanto a otros ácidos grasos, las algas contienen una gran variedad siendo el ácido palmítico (C16:0) el ácido graso saturado (SFA) más común en las células algales (Gressler *et al.*, 2010).

### 1.3.3. Cenizas y minerales

La mayoría de las algas presentan un alto contenido en cenizas (8,4-43,6%) (Tiwari y Troy, 2015) y contienen cantidades significativas de minerales esenciales (Na, K, Ca y Mg) y microminerales (Fe, Zn, Mn y Cu) debido a los polisacáridos de la superficie celular (agar, carragenina, ácido algínico, alginato y celulosa), que les permite absorber sustancias inorgánicas del medio ambiente (Geddie y Hall, 2018; McCall *et al.*, 2000; Neveux *et al.*, 2018). Estos minerales juegan un papel importante en la construcción de tejidos humanos y la regulación de reacciones vitales como cofactores de muchas metaloenzimas. Desde este punto de vista, el contenido en minerales acumulados en las algas podría llegar a ser bastante más alto que el presente en el medio ambiente, como ocurrió con *Ulva clathrata* cultivada en México, donde llegó a alcanzar un contenido mineral de 49,6% en peso seco (Peña-Rodríguez *et al.*, 2011). Por lo tanto, las algas marinas son una fuente importante de minerales y se consideran un valioso alimento funcional utilizado como complemento alimenticio para proporcionar la ingesta diaria de algunos minerales (como K, Na, Ca y Mg) y de elementos traza (como Fe y Zn) (Mahadevan, 2015). Los diferentes contenidos de elementos minerales en las algas

marinas varían, dependiendo del género, diferencias estacionales, ubicación geográfica, intensidad de luz, entre otros factores (Jung *et al.*, 2016; Villares *et al.*, 2002).

Si bien el consumo de algas crece en Europa, existen pocos estudios que informen sobre las cantidades de metales pesados que contienen y/o sus efectos potenciales sobre la salud de los consumidores (Villares *et al.*, 2002). Desafortunadamente, algunas algas presentan una alta afinidad por los metales pesados (Bryan y Hummerstone, 1973), y por esta razón han sido utilizadas como biomarcadores para la contaminación de metales en aguas de ríos, estuarios y costeras de todo el mundo para evaluar la calidad de su entorno (Besada *et al.*, 2009; Chmielewská y Medved, 2001; Villares *et al.*, 2005). Sin embargo, las concentraciones de metales pesados en las algas dependen en gran medida de los parámetros ambientales de las zonas de muestreo (temperatura, salinidad, pH, luz, concentración de nutrientes, oxígeno, etc.) (Zbikowski *et al.*, 2006) y las diferencias estructurales entre las algas (Besada *et al.*, 2009; Villares *et al.*, 2001). La capacidad de las algas de acumular metales depende de varios factores, los dos más relevantes son la biodisponibilidad de los metales en el agua circundante y la capacidad de absorción de las algas (Favero *et al.*, 1996). Además, la movilización de metales del sedimento en áreas cubiertas por grandes cantidades de macroalgas, podría contribuir a su acumulación (Besada *et al.*, 2009). Sorprendentemente, hay poca legislación sobre las algas marinas en la UE, por lo que se ejerce poco control sobre los metales potencialmente dañinos, por lo que es necesario aumentar el conocimiento de la composición de las algas comestibles para evitar el rechazo de este recurso como fuente de alimentación saludable.

#### 1.3.4. Carbohidratos y fibra

Las algas contienen altos contenidos en carbohidratos en un amplio rango, desde el 20% al 80% de su peso seco, dependiendo de la especie (Dawczynski *et al.*, 2007; Rupérez *et al.*, 2002; Yaich *et al.*, 2015). Los carbohidratos están compuestos de monosacáridos o azúcares simples (glucosa, manosa, galactosa, ramnosa, etc.), polisacáridos estructurales (celulosa, agar, carragenatos, alginatos, fucoidanos, xilanos, ulvanos, etc.) y polisacáridos de reserva (laminarina, almidón de floriceas, etc.) (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). El contenido de polisacáridos en las algas está influenciado por varios factores biológicos, físicos y

medioambientales (Stiger-Pouvreau *et al.*, 2016). A diferencia del metabolismo de las plantas, los carbohidratos de almacenamiento en las algas sirven como reservas fotosintéticas y algunos de ellos como osmorreguladores (Stiger-Pouvreau *et al.*, 2016). Un alto porcentaje de polisacáridos presentes en las algas no son digeribles por los seres humanos, considerándose así una buena fuente de fibra dietética. Son componentes amorfos de la pared celular (agar, carragenatos y alginatos) con elevada capacidad de retener agua, que unido a su no digestibilidad, estimula el tránsito intestinal (Lahaye, 1991). La fibra insoluble, constituida por el componente fibrilar de las paredes celulares (celulosa, xilanos, mananos, ulvanos, etc.) se encuentra en menor cantidad (2-8% peso seco), pero también aporta beneficios al tránsito intestinal (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016).

#### 1.3.5. *Capacidad antioxidante*

Los compuestos bioactivos de las algas como proteínas, lípidos, carbohidratos, aminoácidos tipo micosporina, compuestos fenólicos y pigmentos fotosintéticos, además de otras propiedades bioactivas, presentan propiedades antioxidantes por su naturaleza química (Cornish y Garbary, 2010). Los estudios realizados sobre la composición de los extractos algales están enfocados principalmente a la obtención de antioxidantes naturales como una alternativa a los antioxidantes sintéticos, con el objetivo de sustituir los primeros por antioxidantes de origen natural (Sabeena Farvin y Jacobsen, 2013). Los antioxidantes comerciales como son el BHA (hidroxibutilanisol) y el BHT (butilhidroxitolueno) se aplican en muchos alimentos y productos, pero los compuestos antioxidantes de fuentes marinas presentan actividades antioxidantes relativamente más altas en comparación con los sintéticos (El-Baky *et al.*, 2010). Los compuestos antioxidantes son biosintetizados en todos los seres vivos para contrarrestar los daños biológicos causados por la oxidación de moléculas en consecuencia de la realización de fotosíntesis oxigénica y, en mayor medida, dependiendo del nivel de estrés al que se vean sometidas en sus hábitats (Trostchansky *et al.* 2016). A pesar de su exposición, las algas carecen de daño oxidativo en sus componentes estructurales al poseer sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos con una amplísima diversidad molecular (vitaminas, ficobiliproteínas, carotenoides, clorofilas, polisacáridos, PUFAs) (Khairy y El-Sheikh, 2015; Kumar *et al.*, 2011b, 2011a). Estos antioxidantes, puede ser extraídos a partir de la biomasa algal y empleados en innumerables aplicaciones

(Wells *et al.*, 2017). Existen numerosos estudios de compuestos aislados de algas marinas y sus fuertes propiedades antioxidantes (O'Sullivan *et al.*, 2011), sin embargo, hay poco estudiado de los extractos algales en su conjunto y menos aún de las sinergias entre ellos y sus efectos antioxidantes (Miyashita, 2013).

#### **1.4. Propiedades tecnológicas de las algas**

Además de sus propiedades nutricionales y funcionales detalladas anteriormente, las algas y sobre todo algunos de sus extractos, como los ficocoloides, presentan propiedades tecnológicas de gran importancia en la industria alimentaria (Bixler y Porse, 2011). Los ficocoloides (agar, alginatos y carragenanos) son hidrocoloides presentes en las plantas cuya principal propiedad es su elevado poder higroscópico, es decir, la capacidad de retener agua pudiendo formar geles de distinto grado de viscosidad. Esta capacidad los convierte en productos muy versátiles e idóneos para ser utilizados como aditivos, estabilizantes, espesantes, excipientes o gelificantes. Estos polisacáridos junto a otros como laminariano, fucoidano y ulvano según el tipo de algas, pueden mejorar la estructura y la firmeza de los alimentos (Balboa *et al.*, 2013), además de su palatabilidad (Rioux *et al.*, 2017), y contribuir por tanto a la mejora de las propiedades físico-químicas de los alimentos formulados a base de éstas (Roohinejad *et al.*, 2017). Las propiedades de hidratación vienen determinadas por el contenido en fibra y por el tipo de fibra (soluble o insoluble) y se utiliza como agente texturizante (Fernández-Segovia *et al.*, 2018). Esta propiedad se puede determinar midiendo la capacidad de retención de agua (CRA) y la capacidad de hinchamiento (CH). También junto a estos parámetros se suele medir la capacidad de retención de aceite (CRAC) (Fernández-Segovia *et al.*, 2018). Estas propiedades hacen que las algas marinas sean adecuadas para sustituir algunos aditivos químicos utilizados para mejorar la textura y la jugosidad de los alimentos, así como para reducir los exudados en los productos alimenticios (Mikami y Hosokawa, 2013). Por otra parte, las algas también presentan propiedades emulsionantes y espumantes, que se conocen como propiedades de superficie. La estabilidad de la espuma se usa para la elaboración de muchos productos (helados, mousses, salsas, etc.) así como para la mejora de la vida útil y la apariencia de éstos (Tiwari y Troy, 2015). Todas estas características las convierten en productos muy versátiles e idóneos para ser utilizados como aditivos, estabilizantes, espesantes, excipientes o gelificantes en la industria

alimentaria, cosmética o farmacéutica como se puede observar en la Tabla 1.5., recogida en el libro de "*¿Las algas se comen?*".

**Tabla 1.5.** Distintos usos y funciones de los ficocoloides en la industria alimentaria, tomada de Pérez-Lloréns *et al.*, 2016.

Uso	Ficocoloide	Función
Pastelería y panadería	Agar, carragenato	Mejorantes y humectantes
Cerveza y vino	Alginato, carragenato	Mejorantes de la floculación y precipitación de sólidos
Carne enlatada y procesada	Alginato, carragenato	Mantienen la jugosidad y texturizante
Queso	Carragenato	Texturizante
Batido de chocolate	Carragenato	Mantener el cacao en suspensión
Pudines fríos	Carragenato	Espesantes y gelificantes
Leche condensada	Carragenato	Emulsionantes
Cremas lácteas	Carragenato	Emulsionantes
Rellenos de empanadas	Alginato, carragenato	Dar cuerpo y textura
Pescado congelado	Alginato	Adherencia, humedad y conservante
Helados (a base de agua)	Carragenato	Gelificantes
Gominolas y dulces	Agar, carragenato	Gelificantes
Flanes, natillas	Carragenato	Gelificantes, mejorantes de la textura
Tarta de gelatina de frutas	Carragenato	Gelificante
Zumos de frutas	Agar, carragenato	Espesantes, emulsionantes
Gelatinas <i>light</i>	Carragenato	Espesantes, emulsionantes
Batidos	Carragenato	Emulsionante
Aliños de ensalada	Carragenato	Estabilizante de la suspensión
Salsas y condimentos	Agar, carragenato	Espesantes
Leche de soja	Carragenato	Emulsionantes, mejorantes de textura

## 1.5. La gastronomía y la percepción sensorial de las algas

En los últimos años, la comida asiática ha incrementado su popularidad en los países occidentales, estimulando el interés de numerosos cocineros por las algas, no solo por sus características nutritivas y funcionales sino también por sus propiedades tecnológicas y sensoriales. Esta tendencia ha impulsado la creación de nuevos platos por chefs de reconocido prestigio en sus restaurantes (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016; Rioux *et al.*, 2017). El uso de las algas es muy versátil, debido a la gran diversidad de especies existente, ofreciendo un amplio abanico de posibilidades en contrastes cromáticos, texturas y sabores que permite así dar rienda suelta a los chefs y sus increíbles creaciones culinarias (Mouritsen *et al.*, 2018a) (Figura 1.6.). Por ejemplo, las algas marinas pueden usarse como un potenciador de sabor, con el aporte de glutamato (sabor umami) o como agente texturizante (Mouritsen, 2012). Las propiedades organolépticas de las algas dependen

de la especie, encontrándonos así algas de color verde, rojo o pardo en sus diferentes tonalidades y de texturas y aromas tan variados como se pueden observar en la siguiente tabla (Tabla 1.6.).



**Figura 1.6.** Cocina creativa, chefs jugando con los colores y sabores de las algas, tomada de Mouritsen, 2013.

Dichas propiedades también dependen del tratamiento previo y de la forma de consumo (crudas, deshidratadas, tostadas, cocinadas o en conserva) (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). Por ejemplo, el tostado de algunas especies (dulse, nori, wakame, lechuga de mar), las vuelve tan crujientes que se quiebran en la boca antes de reblandecerse con la saliva. Esta cualidad crujiente es un elemento importante en la percepción sensorial, que hace disfrutar al máximo de un plato (Mouritsen *et al.*, 2018). Por otra parte, especies de talos gruesos y fibrosos como kombu, musgo de Irlanda o Cochayuyo, requieren de cocción previa al consumo (Mouritsen *et al.*, 2018).

Sin embargo, los diferentes tratamientos aplicados en las algas modifican en gran medida sus propiedades, y en la actualidad, existe un número limitado de estudios que describan dicho impacto (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Amorim *et al.*, 2012; Chen y Roca, 2018; Pina *et al.*, 2014; Rioux *et al.*, 2017). Dichos procesos provocan cambios significativos en las características sensoriales de las algas y los compuestos aromáticos de las mismas (López-Pérez *et al.*, 2017; Pina *et al.*, 2014), modificando así los aromas característicos de las macroalgas (Sun *et al.*, 2012).

**Tabla 1.6.** Color sabor y textura de las principales algas empleadas en cocina, modificado de Mouritsen, 2013; Pérez-Lloréns *et al.*, 2016; Rhatigan, 2009.

Especie	Sabor	Textura
<b>Verdes</b>		
Lechuga de mar ( <i>Ulva</i> spp.)	Fresco, ligeramente amargo	Fina y cartilaginosa
Cabello de mar ( <i>Ulva</i> spp.)	Fresco y ligero, leve amargor, con notas sutiles de marisco	Suave, resbaladiza y delicada
Ramallo de mar ( <i>Codium</i> spp.)	A percebe con notas de melocotón	Esponjosa, aterciopelada
Uva de mar ( <i>Caulerpa lentillifera</i> )	Suave a mar	Crujiente, explota en boca
<b>Rojas</b>		
Fideo de mar ( <i>Nemalium elminthoides</i> )	Suave a mar, recuerda a moluscos y crustáceos	Carnosa
Ogonori ( <i>Gracilaria</i> spp.)	Marino fresco	Crujiente
Musgo estrellado ( <i>Mastocarpus stellatus</i> )	Neutro	Cartilaginosa
Nori ( <i>Porphyra/Pyropia</i> spp.)	Oblea	Cartilaginosa
Dulse ( <i>Palmaria palmata</i> )	Crustáceo	Cartilaginosa
Laurencia ( <i>Osmundea pinnatifida</i> )	Intenso a mar, ligeramente picante	Crujiente
<b>Pardas</b>		
Wakame ( <i>Undaria pinnatifida</i> )	Suave a mar, ligeramente a ostra	Ligeramente crujiente y algo carnosa
Espagueti de mar ( <i>Himanthalia elongata</i> )	A judías frescas, algo azucarado	Carnosa
Kombu ( <i>Laminaria</i> spp.)	Yodado y ligeramente ahumado	Carnosa y ligeramente cartilaginosa
Kombu azucarado ( <i>Saccharina</i> spp.)	Suave a mar, ligeramente dulce	Carnosa y ligeramente cartilaginosa
Kombu alado ( <i>Alaria esculenta</i> )	Suave a mar	Carnosa y ligeramente cartilaginosa
Cochayuyo ( <i>Durvillaea antarctica</i> )	Intenso a mar	Carnosa y ligeramente cartilaginosa

También han sido descritos los sabores que las algas aportan a los platos, desde el yodado o mineral a un intenso sabor marino o el quinto sabor umami (Mouritsen, 2013). Este último sabor fue descubierto en 1908 por Ikeda en el “dashi”, un caldo tradicional japonés elaborado con el alga kombu y “katsuobushi” (un tipo de pescado seco y ahumado similar al bonito) (Mouritsen y Styrbæk, 2014). El umami se describe como un gusto cárnico agradable, duradero que recubre toda la lengua y hace salivar, estas características se atribuyen principalmente a un aminoácido específico, el ácido glutámico (glutamato monosódico) (Mouritsen y Styrbæk, 2014). Otras moléculas como el guanilato y el inosinato, respectivamente, que se encuentran en el bonito seco y los



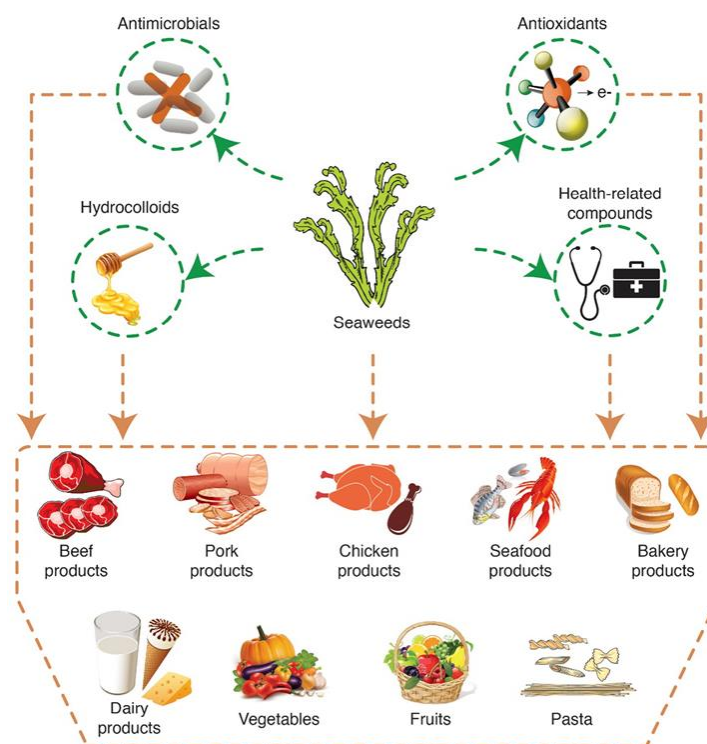
hongos, también se asociaron al gusto umami (Ninomiya, 2015). Por lo tanto, el contenido de glutamato (ácido glutámico) de las algas puede ser la base para el desarrollo de nuevas características sensoriales y mejorar el sabor umami en diferentes productos alimenticios. La proporción de este aminoácido varía según las especies de algas marinas, lo que puede alterar la intensidad de este sabor (Mouritsen *et al.*, 2018).

Hasta el momento solo existen unas pocas aplicaciones que hagan uso de los atributos de las algas y quedaría mucho por explotar en el futuro (Mouritsen *et al.*, 2018a; Rioux *et al.*, 2017). En la cultura gastronómica de España, a pesar de su extensa zona litoral y por consiguiente su riqueza en algas no es habitual su empleo en la cocina. Sin embargo, en los últimos años se ha puesto de moda la cocina saludable e innovadora y eso las convierte en ingredientes estrella en la "haute cuisine" y numerosos chefs de renombre en el país están apostando cada vez más por la inclusión de las algas en sus creaciones. De hecho, recientemente se ha publicado un libro titulado "*¿Las algas se comen?*", editado por la Universidad de Cádiz y en el que han colaborado 17 chefs españoles con estrellas Michelin (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). El aumento de programas de cocina como Masterchef, blogs, recetas o páginas webs donde aparecen recetas innovadoras con algas de los grandes chefs, así como el interés por tener una dieta saludable y la apuesta por probar nuevos sabores, aromas y texturas han favorecido el aumento del consumo de algas en la cocina. Sin embargo, todavía están consideradas como un producto exótico o gourmet asociado a la alta cocina o incluso dentro de un reciente campo emergente denominado ficogastronomía (Mouritsen *et al.*, 2018b).

## **1.6. Desarrollo de nuevos productos a base de algas**

Las propiedades nutricionales, funcionales y, sobre todo, tecnológicas son de gran importancia tanto para el desarrollo de productos a base de algas como para la elaboración de preparaciones culinarias. La diversidad de propiedades que aportan las algas, tanto nutricionales como funcionales o tecnológicas hacen que, dentro de los alimentos funcionales, las algas hayan despertado protagonismo (Mouritsen, 2013). Un alimento funcional es aquel que más allá de su valor nutricional, posee efectos beneficiosos sobre determinadas funciones fisiológicas, contribuyendo al bienestar y a la reducción del riesgo de sufrir ciertas enfermedades (Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). Cada

vez es más habitual la incorporación de algas en la formulación de nuevos productos (Figura 1.7.), sobre todo en las principales empresas del sector donde se están realizando apuestas en investigación y desarrollo (I+D+i). Así pues, la variedad de productos que pueden adquirirse en tiendas especializadas o a través de internet es cada vez mayor. Según MINTEL (La Agencia de Inteligencia de Mercado Líder en el Mundo), el crecimiento del uso de algas en alimentos y bebidas ha crecido un 147% en tan solo cuatro años (2011-2015) y, de hecho, considera que el lanzamiento de productos con algas es una de las tendencias más destacadas en Europa (Fleurence, 2016).



**Figura 1.7.** Aplicación de algas y extractos de algas en el desarrollo de nuevos productos alimentarios, imagen tomada de Roohinejad *et al.*, 2017.

Estudios recientes han puesto en evidencia que el uso de algas como ingrediente alimentario mejora las propiedades nutricionales y funcionales de los alimentos. Así, por ejemplo, la adición de un 3% de “wakame” mejora la textura de la empanada de carne de vacuno (López-López *et al.*, 2011); la adición de “espagueti de mar o nori” para conseguir una mejora en productos cárnicos como salchichas o filetes reestructurados aporta además nutrientes y características más saludables (Cofrades *et al.*, 2017, 2008); la adición de hasta un 8% de *Fucus vesiculosus* en polvo a la harina mejora las propiedades del pan, tanto de textura como nutricionales y funcionales (Arufe *et al.*,

2018). Por otra parte, con la adición de algas también se puede conseguir disminuir la alteración de los atributos sensoriales de algunos alimentos frente a tratamientos de cocción, como fue observado en un estudio en el que se adicionó una pequeña proporción de “wakame” a la pasta (Prabhasankar *et al.*, 2009). Estos efectos también se observan en bebidas como la cerveza, donde se utiliza “kelp” azucarado para mejorar el gusto de la malta (Rioux *et al.*, 2017).

La tendencia creciente en el consumo de bebidas funcionales ha llevado a iniciar una nueva línea con adición de algas a las bebidas, principalmente las verdes, ya que aportan nutrientes como vitaminas, proteínas, minerales y antioxidantes, que se están investigando para obtener numerosos beneficios para la salud (Cofrades *et al.*, 2013).

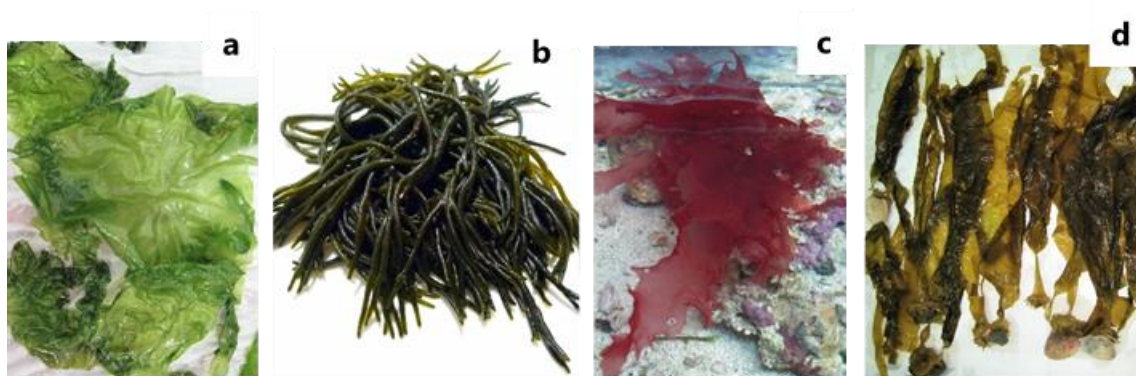
A pesar del incremento en el uso de las algas como fuente de ingredientes alimentarios (incluidos los compuestos bioactivos), su potencial aún no se ha explotado plenamente. Por lo tanto, nuevas líneas investigación sobre el uso de algas como ingrediente en alimentos y bebidas abrirá nuevos horizontes para la industria, ofreciendo beneficios nutricionales/funcionales y tecnológicos basados en el uso de un recurso natural abundante que actualmente se usa poco en la sociedad occidental (Cofrades *et al.*, 2013).

### **1.7. Las algas de los esteros gaditanos**

Las algas se han convertido en un producto clave para la alimentación dadas sus características nutricionales y la diversidad existente a nivel mundial (Chan y Matanjun, 2017; Jibri *et al.*, 2016), teniendo en cuenta además la tendencia a buscar dietas saludables y de consumo de productos 100% naturales (Cofrades *et al.*, 2013; Couteau y Coiffard, 2016). Sin embargo, el consumo de algas a nivel europeo, y en España en particular no está extendido. Según la FAO (2014), en 2012 apenas se cosecharon 503 toneladas de peso fresco de algas, y la mayoría se recolectaron de poblaciones naturales (500 tn), donde el único cultivo es de *Saccharina latissima* en Galicia. Mientras que en Andalucía solo se han realizado las primeras pruebas a nivel científico para determinar la viabilidad de su cultivo en esta zona por la Universidad de Cádiz (Bermejo *et al.*, 2019). Por otra parte, la mayoría de las algas recolectadas se destinan a la extracción de ficocoloides, siendo muy pequeña y reciente aún la explotación y comercialización de

algas con fines alimentarios en nuestro país. En este sentido cabe destacar la empresa gallega Porto-Muiños ([www.portomuinos.com](http://www.portomuinos.com)), la cual comenzó en 1998 a comercializar algas deshidratadas y en conserva en sus primeros años. Actualmente también se pueden encontrar sus productos en polvo, salazón y fresco, estas últimas con mucho éxito. Sus algas se distribuyen a todos los puntos de las comunidades españolas, y en distintos países de los cinco continentes. Las especies que recolectan son las mismas que se comercializan en Japón, China y Corea (Cremades-Ugarte, 2006), por lo que se mantuvo la misma denominación comercial (Wakame, *Undaria pinnatida*; Kombu, *Laminaria* sp.; Nori, *Porphyra* sp.; Dulse, *Palmaria* sp.).

En Andalucía, más concretamente en el litoral gaditano, existe una empresa fundada en 2007 con el nombre de Suralgas ([www.suralgas.com](http://www.suralgas.com)), con el objetivo de valorizar las algas del litoral gaditano para destino alimentario. Esta empresa dio sus primeros pasos en colaboración con las áreas de Ecología y de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Cádiz, para realizar un estudio de la flora marina de interés comercial en el caladero de Barbate y un estudio sobre el potencial nutricional y alimentario de las principales algas de dicho caladero. Este último dio lugar a mi trabajo fin de máster titulado "Composición química y valor calórico de cuatro especies de macroalgas de las costas gaditanas" y permitió dar los primeros pasos en la valorización de las algas como producto alimentario en la provincia de Cádiz (Sánchez-García *et al.*, 2016) y seleccionar aquellas de mayor interés desde el punto de vista nutricional y comercial. Las algas estudiadas fueron: *Ulva* sp. (Figura 1.8.a), *Codium* sp. (Figura 1.8.b), *Halymenia floresii* (Figura 1.8.c) y *Saccorhiza polyschides* (Figura 1.8.d) y los resultados mostraron una composición nutricional variable en función de la especie.

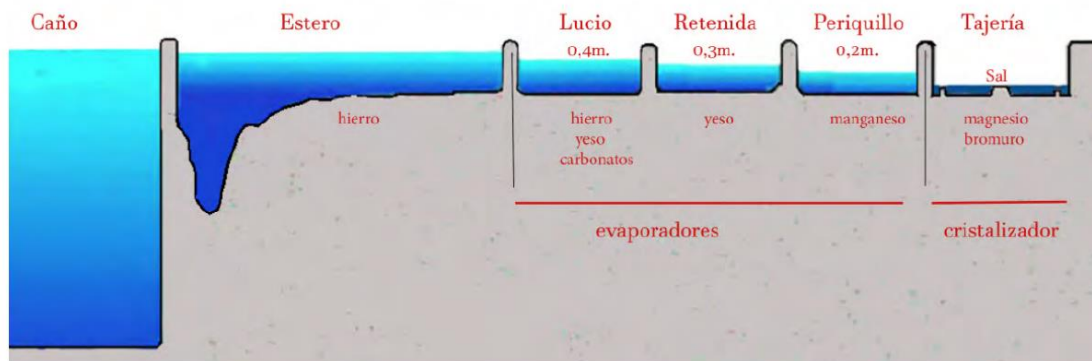


**Figura 1.8.** Algas estudiadas en el caladero de Barbate, Cádiz.

Los resultados mostraron que *Ulva* sp. presentó el menor contenido en grasas (3,4% peso seco) y altos niveles de carbohidratos (11,7% peso seco) y fibra (9,5% peso seco); *Codium* sp. la que presentó el mayor contenido en proteínas (15,6% peso seco); *H. floresia* la que presentó el mayor contenido en minerales (50,2% peso seco vs 30% del resto); y *S. polyschides* presentó el mayor contenido en fibra (16,6% peso seco).

Con este estudio se pudo comprobar que, en función de la especie, su composición puede variar, aunque se desarrollen en el mismo lugar y que podían ser especies interesantes para su venta y consumo en la provincia.

Sin embargo, la falta de acuerdos entre la Delegación Territorial de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente y la Cofradía de Pescadores y la falta de normativa de regulación al respecto, imposibilitó la recolección de las algas en los caladeros. Así que la empresa optó por la recolección de las algas que se desarrollaban de forma natural en las marismas o humedales de la bahía. Las costas de la Bahía de Cádiz y, en particular, sus esteros, cuentan con una gran riqueza en recursos naturales y entre ellos, un gran número de especies de algas (Bermejo *et al.*, 2012; Pérez-Lloréns *et al.*, 2012) aún sin explotar. La situación geográfica hace que esta zona tenga unas características climatológicas y ambientales muy particulares si se compara con otras zonas del mundo. Desde un punto de vista florístico los ambientes más interesantes son los intermareales rocosos expuestos al oleaje, las marismas y los humedales costeros (Pérez-Lloréns *et al.*, 2012). La influencia de las mareas y la poca profundidad de las marismas, favorece la riqueza de nutrientes en los esteros. Éstos se encuentran en el Parque Natural de la Bahía de Cádiz y tradicionalmente se han utilizado para la producción de sal. Esta producción consiste en un sistema de esteros, caños y compuertas creadas en las marismas (Figura 1.9.). Se aprovechan las diferencias de marea, la leve pendiente, el cierre de compuertas y la evaporación solar para concentrar la sal del agua de mar y realizar su extracción después del verano (Gracia *et al.*, 2017). Estos esteros también son utilizados para la acuicultura tanto de peces como de bivalvos (Drake y Arias, 1997; Yufera y Arias, 2010). La particularidad de este ecosistema, situado en un entorno natural y realizando un sistema de producción sostenible (Yufera y Arias, 2010), se consiguen productos con características nutricionales y sensoriales que hace singulares a dichos recursos (Manreco y Cárdenas, 2012).



**Figura 1.9.** Corte transversal de una salina, indicando las zonas y los minerales que se acumulan durante la evaporación, imagen tomada de Gracia *et al.*, 2017.

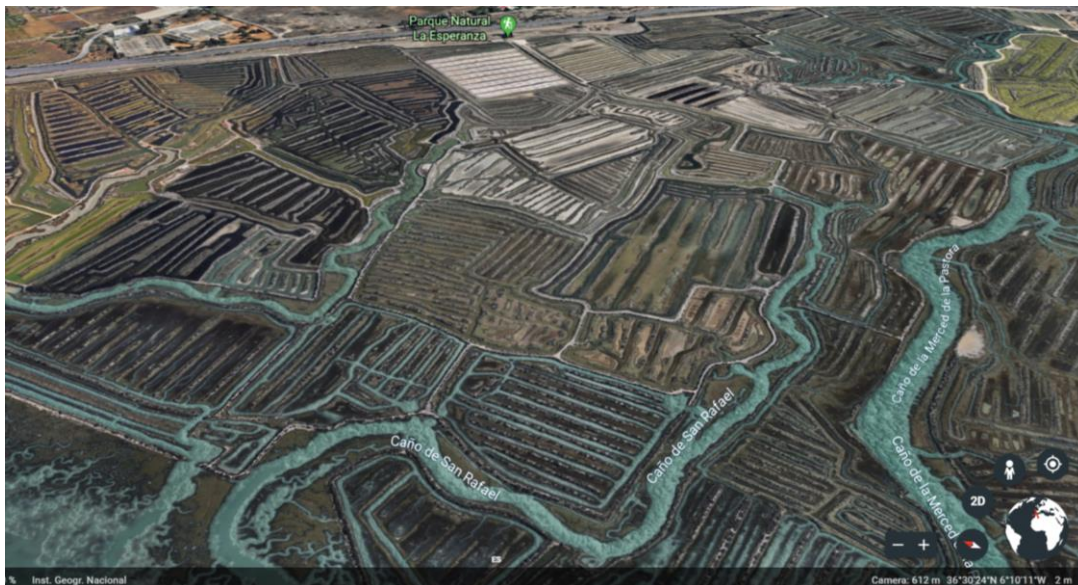
De hecho, el pescado procedente de los esteros, está diferenciado con un sello de distinción elaborado por ASEMA (Asociación de Empresas de Acuicultura Marina de Andalucía), considerado un producto de gran calidad, inmejorable sabor y riqueza nutricional, reconocido con una marca denominada pescado de estero (Figura 1.10.).



**Figura 1.10.** Logo de ASEMA y la marca creada para la distinción del pescado de estero.

A pesar de su riqueza, casi el 80% de esta área se encuentra actualmente en desuso (Gracia *et al.*, 2017), luego la explotación de algas con fines alimentarios puede ser una actividad comercial de interés. Esta actividad, además de potenciar la creación de nuevos negocios en la zona, ofrecería una alternativa sostenible (Bermejo *et al.*, 2019), ya que el abandono de la explotación conlleva a un riesgo de colmatación de los esteros, una disminución de la circulación del agua y una consiguiente pérdida de biodiversidad (Gracia *et al.*, 2017). Algunos de estos esteros se han recuperado parcialmente para la actividad salinera o para poner en valor sus servicios ambientales. Tal es el caso de la salina La Esperanza (Figura 1.11.), recuperada por el Ministerio de Medio Ambiente como parte de un “programa de adquisición de fincas” y que posteriormente fue otorgada en concesión a la Universidad de Cádiz (Ceimar).



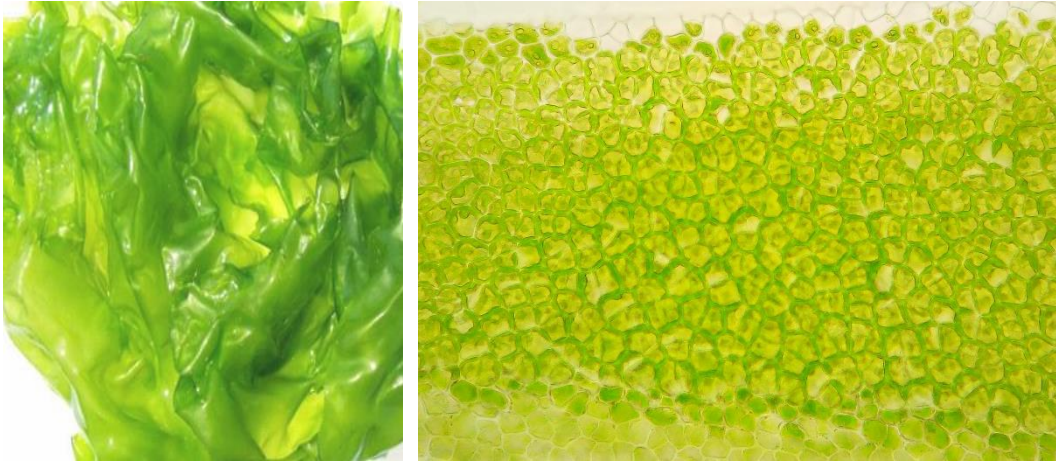


**Figura 1.11.** Vista aérea de la Salina La Esperanza obtenida a través Google Earth.

Dicha concesión se otorga a la UCA para la ejecución del proyecto de “Gestión Integrada Sostenible de Salinas de las salinas de La Esperanza” incluyendo, entre otras actividades, la explotación de sal artesanal, explotación de flor de sal, actividades de educación ambiental y ecoturismo, y actividades de investigación y conservación de la biodiversidad. El fomento de la explotación de algas en estos esteros puede incluirse como una forma de recuperar la actividad empresarial de los esteros en desuso.

El interés por fomentar el consumo y explotación de las algas de los esteros de la Bahía de Cádiz ha dado lugar a nuevas investigaciones sobre estas algas (*Ulva* spp., *Gracilaria* spp. o *Chondracanthus teedei*), sus propiedades, su cultivo y el potencial culinario y gastronómico que favorezcan su inclusión en la sociedad como un recurso más del que aún queda mucho por descubrir.

La explotación de estas algas podría ser por tanto en una alternativa real y sostenible complementaria de los recursos ofrecidos por los esteros (sal y especies piscícolas), especialmente en periodos de crisis que tienen una repercusión notable en la acuicultura. De entre las algas de los esteros, el alga verde *Ulva* spp. (Figura 1.12.), conocida comercialmente como lechuga de mar, es una especie que pertenece al género *Ulva*, y es una de las más utilizadas como condimento alimentario en Asia o suplemento nutricional en países como EE.UU., Japón, China, Chile y Francia (Rioux *et al.*, 2017).



**Figura 1.12.** Lechuga de mar fresca y vista al microscopio en el laboratorio (400x).

En los últimos años el interés por este alga y por las *Ulva*es en general como un nuevo producto alimenticio se está expandiendo en los países occidentales (Peña-Rodríguez *et al.*, 2011; Rioux *et al.*, 2017). Por todas estas razones, se propuso desarrollar la presente Tesis Doctoral, para poner en valor el potencial del alga verde *Ulva* spp. recolectada en los esteros gaditanos.







## OBJETIVOS





## 1.8. Objetivos

En 2050 se prevé que la población mundial ascienda a 10.000 millones de personas, por lo que es necesario buscar nuevas fuentes de alimentación (FAO, 2018). Las algas marinas se consideran un producto clave para suplir esta demanda, dadas sus características nutricionales, funcionales y tecnológicas (Chan y Matanjun, 2017; Pérez-Lloréns *et al.*, 2018); y la disponibilidad de diferentes especies a nivel mundial (Chan y Matanjun, 2017; Jibri *et al.*, 2016). Además, la creciente demanda de nuevos recursos alimentarios sostenibles, saludables y naturales ha incrementado el uso de las algas en la gastronomía (Mouritsen, 2012; Pérez-Lloréns *et al.*, 2018; Rhatigan, 2009), lo que ha conducido a que actualmente exista una nueva tendencia culinaria conocida como “ficogastronomía” (O. Mouritsen *et al.*, 2018a). Las algas se consumen en distintos formatos (crudo, deshidratado, en salazón, etc.) y pueden someterse a distintos tratamientos de elaboración. Sin embargo, existe un número limitado de estudios que describan el impacto del procesado en la composición de las algas (Chen y Roca, 2018; Choi *et al.*, 2010; Hwang, 2013; Pina *et al.*, 2014; Rioux *et al.*, 2017), así como pocas aplicaciones que hagan uso de sus atributos (Mouritsen *et al.*, 2018a; Rioux *et al.*, 2017).

En España, a pesar de la extensa zona litoral y gran riqueza costera no existe una cultura gastronómica basada en las algas. Además, en determinadas zonas como en los esteros de la Bahía de Cádiz es habitual que las algas como *Ulva* spp. se desarrollen de forma natural. Estos ecosistemas particulares se caracterizan entre otros por aportar recursos sostenibles con propiedades nutricionales y sensoriales singulares (Manreco y Cárdenas, 2012; Yufera y Arias, 2010). Sin embargo, a pesar de su riqueza, casi el 80% de los esteros se encuentra actualmente en desuso (Gracia *et al.*, 2017), luego resulta de especial interés la búsqueda de una actividad sostenible y comercialmente rentable para recuperar la zona (Bermejo *et al.*, 2019) como podría ser la explotación de las algas con fines alimentarios.

Así, el **objetivo principal de la Tesis Doctoral** consiste en estudiar y evaluar la lechuga de mar (*Ulva* spp.), presente en los esteros gaditanos, como recurso alimentario para el consumo humano y desarrollo de nuevos productos. Para la consecución de este objetivo se plantean los siguientes **objetivos específicos**:

- I. Estudio y evaluación de las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas de *Ulva rigida*, recolectada en los esteros gaditanos en las diferentes estaciones del año. Este objetivo se aborda en el **Capítulo 2** mediante el análisis de la composición proximal, contenido mineral, perfil de ácidos grasos y aminoácidos, capacidad antioxidante, concentración de clorofilas y propiedades tecnológicas de *U. rigida*.
- II. Estudio de la evolución fisicoquímica, sensorial y microbiológica de la lechuga de mar fresca (*Ulva rigida*). En el **Capítulo 3.1** se desarrolla este objetivo mediante la evaluación de la calidad de frescura y vida útil del alga almacenada en condiciones de refrigeración empleando dos temperaturas diferentes. Para ello, se emplean métodos físicos ( $a_w$ , pH, % exudado, color, textura), químicos (pigmentos, TVB-N y TMA-N), microbiológicos (recuento de gérmenes) y sensoriales. Además, dicho estudio se complementa con la evolución de los compuestos volátiles y su relación con las características sensoriales del alga durante su almacenamiento a las diferentes temperaturas en el **Capítulo 3.2**.
- III. Estudio de la influencia de diferentes métodos de cocción sobre las propiedades nutricionales y funcionales de *Ulva* sp. de estero. Este objetivo se desarrolla en el **Capítulo 4.1** mediante el estudio de los efectos de diferentes tratamientos de cocción (hervido, al vapor y al vacío) en la estructura celular, color, concentración de pigmentos, capacidad antioxidante, pH,  $a_w$ , composición proximal, contenido mineral, perfil de ácidos grasos y características sensoriales de *Ulva* sp. Además, en el **Capítulo 4.2**, se complementa con la evolución de los compuestos volátiles y su relación con las características sensoriales del alga en los diferentes métodos de cocción.
- IV. Diseño y formulación de nuevos productos a base de algas. En el **Capítulo 5** se recoge el desarrollo de los diferentes productos elaborados a base de *Ulva* sp. de estero presentándose las diferentes formulaciones, descripción de los productos, características del proceso productivo y composición de los productos finales. Además, se incluye un estudio de aceptabilidad y preferencia de estos productos por posibles consumidores.

En el **Capítulo 6** se resume el potencial de *Ulva* sp. de los esteros gaditanos determinado y perspectivas futuras. Y, finalmente, en el **Capítulo 7** se presentan las conclusiones derivadas de la realización de esta Tesis Doctoral.

## 1.9. Bibliografía

- Alexander, A., 2006. The companion to tasmanian history. Hobart, *Cent. Aborig. Stud. Univ. Tasmania*. URL [http://www.utas.edu.au/library/companion\\_to\\_tasmanian\\_history](http://www.utas.edu.au/library/companion_to_tasmanian_history) (accessed 9.12.18).
- Arasaki, A., Arasaki, T., 1983. Low calories, high nutrition. Vegetables from the sea to help you look and feel better. *Japan Publ. Inc.* 39–42.
- Arufe, S., Della Valle, G., Chiron, H., Chenlo, F., Sineiro, J., Moreira, R., 2018. Effect of brown seaweed powder on physical and textural properties of wheat bread. *Eur. Food Res. Technol.* 244, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2929-8>
- Balboa, E.M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E., Domínguez, H., 2013. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem.* 138, 1764–1785. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.026>
- Banskota, A.H., Stefanova, R., Sperker, S., Lall, S.P., Craigie, J.S., Hafting, J.T., Critchley, A.T., 2014. Polar lipids from the marine macroalga *Palmaria palmata* inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophage cells. *Phytochemistry* 101, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.02.004>
- Bengtson, S., Sallstedt, T., Belivanova, V., Whitehouse, M., 2017. Three-dimensional preservation of cellular and subcellular structures suggests 1.6 billion-year-old crown-group red algae, *PLoS Biology*. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000735>
- Bermejo, R., Macías, M., Cara, C.L., Sánchez-García, J., Hernández, I., 2019. Culture of *Chondracanthus teedei* and *Gracilariopsis longissima* in a traditional salina from southern Spain. *J. Appl. Phycol.* 31, 561–573. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1516-0>
- Bermejo, R., Vergara, J.J., Hernández, I., 2012. Application and reassessment of the reduced species list index for macroalgae to assess the ecological status under the Water Framework Directive in the Atlantic coast of Southern Spain. *Ecol. Indic.* 12, 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.04.008>
- Besada, V., Andrade, J.M., Schultze, F., González, J.J., 2009. Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *J. Mar. Syst.* 75, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2008.10.010>
- Bixler, H.J., Porse, H., 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *J. Appl. Phycol.* 23, 321–335. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9529-3>
- Boulom, S., Robertson, J., Hamid, N., Ma, Q., Lu, J., 2014. Seasonal changes in lipid, fatty acid,  $\alpha$ -tocopherol and phytosterol contents of seaweed, *Undaria pinnatifida*, in the Marlborough Sounds, New Zealand. *Food Chem.* 161, 261–269. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.007>
- Bryan, G.W., Hummerstone, L.G., 1973. Brown seaweed as an indicator of heavy metals in estuaries in South-West England. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 53, 705–720.
- Castillo, P.S., García, A., 2018. *Posidonia y el mar*, Rissoella. ed. España.
- Chan, C., Ho, C., Phang, S., 2006. Trends in seaweed research. *Trends Plant Sci.* 11, 165–166. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.02.003>
- Chan, P.T., Matanjun, P., 2017. Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Food Chem.* 221, 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.066>

- Chen, K., Roca, M., 2018. Cooking effects on chlorophyll profile of the main edible seaweeds. *Food Chem.* 266, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.040>
- Chengkui, Z., 1984. Phycological research in the development of the Chinese seaweed industry. *Hydrobiologia* 1, 7–18.
- Chmielewská, E., Medved, J., 2001. Bioaccumulation of heavy metals by green algae *Cladophora glomerata* in a refinery sewage lagoon. *Croat. Chem. Acta* 74, 135–145.
- Choi, J. Il, Kim, H.J., Kim, J.H., Chun, B.S., Ahn, D.H., Kim, G.H., Lee, J.W., 2010. Changes in colour and antioxidant activities of *Hizikia fusiformis* cooking drips by gamma irradiation. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 1074–1078. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.012>
- Cock, J.M., Sterck, L., Rouze, P., Scornet, D., Allen, A.E., Amoutzias, G., Anthouard, V., Aury, J., Badger, J.H., Beszteri, B., Corre, E., Silva, C. Da, Delage, L., Delaroque, N., Dittami, S.M., Doulebeau, S., Elias, M., Farnham, G., Gachon, C.M.M., Gschloessl, B., Heesch, S., Jabbari, K., Jubin, C., Lang, D., Bail, A. Le, Kawai, H., Kimura, K., Kloareg, B., Ku, F.C., Leblanc, C., Lerouge, P., Lohr, M., Lopez, P.J., Martens, C., Maumus, F., Michel, G., Miranda-saavedra, D., Morales, J., Peters, A.F., Pommier, C., Nagasato, C., Napoli, C.A., Nelson, D.R., Nyvall-colle, P., Potin, P., Poulain, J., Quesneville, H., Read, B., Rensing, S.A., Strittmatter, M., Tonon, T., Tregear, J.W., Valentin, K., Dassow, P. Von, Yamagishi, T., Peer, Y. Van De, Wincker, P., 2010. The *Ectocarpus* genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae. *Nature* 465, 617–621. <https://doi.org/10.1038/nature09016>
- Cofrades, S., Benedí, J., Garcimartin, A., Sánchez-Muniz, F.J., Jimenez-Colmenero, F., 2017. A comprehensive approach to formulation of seaweed-enriched meat products: From technological development to assessment of healthy properties. *Food Res. Int.* 99, 1084–1094. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.029>
- Cofrades, S., López-López, I., Solas, M.T.T., Bravo, L., Jiménez-Colmenero, F., 2008. Influence of different types and proportions of added edible seaweeds on characteristics of low-salt gel/emulsion meat systems. *Meat Sci.* 79, 767–776. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.11.010>
- Cofrades, S., Serdaroğlu, M., Jiménez-Colmenero, F., 2013. Design of healthier foods and beverages containing whole algae. *Funct. Ingredients from Algae Foods Nutraceuticals* 609–633. <https://doi.org/10.1533/9780857098689.4.609>
- Collén, J., Porcel, B., Carré, W., Ball, S.G., Chaparro, C., Tonon, T., Barbeyron, T., Michel, G., Noel, B., Valentin, K., Elias, M., Artiguenave, F., Arun, A., Zambounis, A., Wincker, P., Boyen, C., 2013. Genome structure and metabolic features in the red seaweed *Chondrus crispus* shed light on evolution of the Archaeplastida. *Proceeding Natl. Acad. Sci.* 110, 5247–5252. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221259110>
- Cornish, M.L., Critchley, A.T., Mouritsen, O.G., 2017. Consumption of seaweeds and the human brain. *J. Appl. Phycol.* 29, 2377–2398. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-1049-3>
- Cornish, M.L., Garbary, D.J., 2010. Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *Algae* 25, 155–171. <https://doi.org/10.4490/algae.2010.25.4.155>
- Couteau, C., Coiffard, L., 2016. Seaweed in health and disease prevention, *Seaweed in Health and Disease Prevention*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00014-2>
- Craigie, J.S., 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23, 371–393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Cremades-Ugarte, J., 2006. Biología, distribución e integración del alga alóctona *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta) en las comunidades bentónicas de las costas de Galicia (NW de la Península Ibérica). *An. del Jardín Botánico Madrid* 63, 169–187.



- Dawczynski, C., Schubert, R., Jahreis, G., 2007. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem.* 103, 891–899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.041>
- Dillehay, T.D., Ramírez, C., Pino, M., Collins, M.B., Rossen, J., Pino-Navarro, J.D., 2008. Monte Verde: Seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science* (80) 320, 784–786. <https://doi.org/10.1126/science.1156533>
- Drake, P., Arias, A.M., 1997. The effect of aquaculture practices on the benthic macroinvertebrate community of a lagoon system in the Bay of Cadiz (southwestern Spain). *Estuaries* 20, 677. <https://doi.org/10.2307/1352243>
- El-Baky, H.H.A., El-Baz, F.K., Baroty, G.S. El, 2010. Enhancing antioxidant availability in wheat grains from plants grown under seawater stress in response to microalgae extract treatments. *J. Sci. Food Agric.* 90, 299–303. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3815>
- Elisabeth Mann, B., 1980. *Seafarm: The story of aquaculture*. New York.
- Emil Mukhamejanov, Galina Kon, Sara Erjanova, Aray Kirgizbaeva, Elizabeth Muhamadieva, 2019. Fucoidan—New principle prevention and treatment of diabetes. *J. Pharm. Pharmacol.* 7, 316–322. <https://doi.org/10.17265/2328-2150/2019.06.005>
- FAO, 2018. *Estado mundial de la pesca y la acuicultura*, FAO. Roma. <https://doi.org/978-92-5-308275-9> ISSN1020-5500
- Favero, N., Cattalini, F., Bertaggia, D., Albergoni, V., 1996. Metal Accumulation in Biological Indicator (*Ulva rigida*) from the Lagoon of Venice (Italy). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31, 9–18.
- Fernández-Segovia, I., Lerma-García, M.J., Fuentes, A., Barat, J.M., 2018. Characterization of Spanish powdered seaweeds: Composition, antioxidant capacity and technological properties. *Food Res. Int.* 111, 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.037>
- Fleurence, J., 2016. *Seaweeds as food, seaweed in health and disease prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00005-1>
- Fleurence, J., 2004. Seaweed proteins, 1st Editio. ed. *Proteins in Food Processing*. CRC press.
- Fleurence, J., 1999. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci. Technol.* 10, 25–28. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00015-1](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00015-1)
- Fujiwara-arasakil, T., Minol, N., Kuroda, M., 1984. The protein value in human nutrition of edible marine algae in Japan. *Hidrobiologia*. 516, 513–516.
- Garcia-Vaquero, M., Lopez-Alonso, M., Hayes, M., 2017. Assessment of the functional properties of protein extracted from the brown seaweed *Himanthalia elongata* (Linnaeus) S. F. Gray. *Food Res. Int.* 99, 971–978. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.023>
- Geddie, A.W., Hall, S.G., 2018. An introduction to copper and zinc pollution in macroalgae: for use in remediation and nutritional applications. *J. Appl. Phycol.* <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1580-5>
- Gerasimenko, N.I., Busarova, N.G., Moiseenko, O.P., 2010. Seasonal changes in the content of lipids, fatty acids, and pigments in brown alga *Costaria costata*. *Russ. J. Plant Physiol.* 57, 205–211. <https://doi.org/10.1134/S102144371002007X>
- Gerasimenko, N.I., Skriptsova, a. V., Busarova, N.G., Moiseenko, O.P., 2011. Effects of the season and growth stage on the contents of lipids and photosynthetic pigments in brown alga *Undaria pinnatifida*. *Russ. J. Plant Physiol.* 58, 885–891. <https://doi.org/10.1134/S1021443711050086>

- Gracia, F.J., Alonso, C., Abarca, J.M., 2017. Geomorphology and historical evolution of salt explotations in salt marshes. Examples from the bay of Cadiz. *Cuaternario y Geomorfol.* 31, 45. <https://doi.org/10.17735/cyg.v31i1-2.54681>
- Gressler, V.V., Yokoya, N.S., Fujii, M.T., Colepiccolo, P., Filho, J.M., Torres, R.P., Pinto, E., 2010. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food Chem.* 120, 585–590. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.028>
- Guschina, I.A., Harwood, J.L., 2009. Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry, in: *Lipids in Aquatic Ecosystems*. Springer New York, 1–24. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-89366-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-0-387-89366-2_1)
- Guschina, I.A., Harwood, J.L., 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Prog. Lipid Res.* 45, 160–186. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.01.001>
- Halling, C., Wikström, S.A., Lilliesköld-sjö, G., Mörk, E., Lundsør, E., Zuccarello, G.C., 2013. Introduction of Asian strains and low genetic variation in farmed seaweeds: indications for new management practices. *J. Appl. Phycol.* 25, 89–95. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9842-0>
- Harnedy, P.A., FitzGerald, R.J., 2011. Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *J. Phycol.* 47, 218–232. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00969.x>
- Harris, C., Matsuda, K., Sattelle, D.B., 2013. Dr . Kathleen Drew-Baker, "Mother of the Sea", a Manchester scientist celebrated each year for half a century in Japan. *Bioessays* 35, 838–839. <https://doi.org/10.1002/bies.201300061>
- Henderson, J., 2004. *The roman book of gardening*. Routledge, London, New York.
- Hotimchenko, S. V., 2002. Fatty acid composition of algae from habitats with varying amounts of illumination. *Russ. J. Mar. Biol.* 28, 218–220. <https://doi.org/10.1023/A:1016861807103>
- Hurtado, A.Q., Montaña, M.N.E., Martinez-goss, M.R., 2013. Commercial production of carrageenophytes in the Philippines: ensuring long-term sustainability for the industry. *J. Appl. Phycol.* 25, 733–742. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9945-7>
- Hwang, E.S., 2013. Composition of amino acids, minerals, and heavy metals in differently cooked laver (*Porphyra tenera*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42, 1270–1276. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.8.1270>
- Ibañez, E., Guerrero, M., 2017. *Las algas que comemos*. Catarata.
- Ing, P., Ling, L.Y., Eng, J., 2010. The influence of consumer characteristics on the acceptance of new seaweed food products. *J. Kemanus. bil.* 15, 97–107.
- Jeffrey, S.W., Humphrey, G.F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. und Physiol. der Pflanz.* 167, 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
- Jibri, S.M., Jakada, B.H., Umar, H.Y., Ahmad, T.A., 2016. Importance of some algal species as a source of food and supplement. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 5, 186–193. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.020>
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Pintado, T., Solas, M.T.T., 2010. Technological and sensory characteristics of reduced/low-fat, low-salt frankfurters as affected by the addition of konjac and seaweed. *Meat Sci.* 84, 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.09.002>
- Johnson, N., 1990. Seaweed and its synthetic analogues in obstetrics and gynaecology 450BC-1990AD. *J. R. Soc. Med.* 83, 387–389.

- Jung, S.M., Kang, S.G., Son, J.S., Jeon, J.H., Lee, H.J., Shin, H.W., 2016. Temporal and spatial variations in the proximate composition, amino acid, and mineral content of *Pyropia yezoensis*. *J. Appl. Phycol.* 28, 3459–3467. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0862-z>
- Kannan, R.R.R., Arumugam, R., Anantharaman, P., 2013. Pharmaceutical potential of a fucoidan-like sulphated polysaccharide isolated from *Halodule pinifolia*. *Int. J. Biol. Macromol.* 62, 30–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.005>
- Kendel, M., Wielgosz-Collin, G., Bertrand, S., Roussakis, C., Bourgougnon, N., Bedoux, G., 2015. Lipid Composition, Fatty Acids and Sterols in the Seaweeds *Ulva armoricana*, and *Solieria chordalis* from Brittany (France): An Analysis from Nutritional, Chemotaxonomic, and Antiproliferative Activity Perspectives. *Mar. Drugs.* 13, 5606–5628. <https://doi.org/10.3390/md13095606>
- Khairy, H.M., El-Sheikh, M.A., 2015. Antioxidant activity and mineral composition of three Mediterranean common seaweeds from Abu-Qir Bay, *Egypt. Saudi J. Biol. Sci.* 22, 623–630. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.01.010>
- Khotimchenko, S. V., Gusarova, I.S., 2004. Red algae of Peter the Great Bay as a source of arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Russ. J. Mar. Biol.* 30, 183–187. <https://doi.org/10.1023/B:RUMB.0000033953.67105.6b>
- Khotimchenko, S. V., Vaskovsky, V.E., Titlyanova, T. V., 2002. Fatty acids of marine algae from the pacific coast of North California. *Bot. Mar.* 45, 17–22. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.003>
- Kilinc, B., Cirik, S., Turan, G., Tekogul, H., Koru, E., 2013. Seaweeds for food and industrial applications, in: food industry. *InTech*, 735–748. <https://doi.org/10.5772/53172>
- Kim, M.K., Dubacq, J.P., Thomas, J.C., Giraud, G., 1996. Seasonal variations of triacylglycerols and fatty acids in *Fucus serratus*. *Phytochemistry* 43, 49–55. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00243-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00243-9)
- Kuczynski, T., Blanes-Vidal, V., Li, B., Gates, R.S., De, I., Nääs, A., Moura, D.J., Berckmans, D., Banhazi, T.M., 2011. Impact of global climate change on the health, welfare and productivity of intensively housed livestock. *Int J Agric Biol Eng Open Access Int J Agric Biol Eng* 4, 1–22. <https://doi.org/10.3965/j.issn.1934-6344.2011.02.001-022>
- Kumar, M., Gupta, V., Kumari, P., Reddy, C.R.K., Jha, B., Manij Kumar, Vishal Gupta, Puja Kumari, C. R. K. Reddy, B.J., 2011a. Assessment of nutrient composition and antioxidant potential of Caulerpaceae seaweeds. *J. Food Compos. Anal.* 24, 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.07.007>
- Kumar, M., Kumari, P., Trivedi, N., Shukla, M.K., Gupta, V., Reddy, C.R.K., Jha, B., 2011b. Minerals, PUFAs and antioxidant properties of some tropical seaweeds from Saurashtra coast of India. *J. Appl. Phycol.* 23, 797–810. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9578-7>
- Kumar, S., Sahoo, D., Levine, I., 2015. Assessment of nutritional value in a brown seaweed *Sargassum wightii* and their seasonal variations. *Algal Res.* 9, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.024>
- Kumari, P., Kumar, M., Reddy, C.R.K., Jha, B., 2013. Algal lipids, fatty acids and sterols, functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals. *Woodhead Publishing Limited*. <https://doi.org/10.1533/9780857098689.1.87>
- Lahaye, M., 1991. Marine algae as sources of fibres: Determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some “sea vegetables.” *J. Sci. Food Agric.* 54, 587–594. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540410>
- Larsen, R., Eilertsen, K.E., Elvevoll, E.O., 2011. Health benefits of marine foods and ingredients. *Biotechnol. Adv.* 29, 508–518. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.017>

- Li, X., Fan, X., Han, L., Lou, Q., 2002. Fatty acids of some algae from the Bohai Sea. *Phytochemistry* 59, 157–161. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00437-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00437-X)
- López-López, I., Cofrades, S., Cañeque, V., Díaz, M.T., López, O., Jiménez-Colmenero, F., 2011. Effect of cooking on the chemical composition of low-salt, low-fat Wakame/olive oil added beef patties with special reference to fatty acid content. *Meat Sci.* 89, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.016>
- Macartain, P., Gill, C.I.R., Brooks, M., Campbell, R., Rowland, I.R., 2007. Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition Reviews* (12) 65, 535–543. <https://doi.org/10.1301/nr.2007.dec.535>
- Mahadevan, K., 2015. Seaweed sustainability, in: Tiwari, B.K., Troy, D.J. (Eds.), *Seaweed: A Sustainable Food Source*. Academic Press, San Diego, Ca, USA, pp. 347–364.
- Mahalik, N., Kim, K., 2014. Aquaculture monitoring and control systems for seaweed and fish farming. *World J. Agric. Res.* 2, 176–182. <https://doi.org/10.12691/wjar-2-4-7>
- Manreco, J.L., Cárdenas, S., 2012. Análisis sensorial de corvina *Argyrosomus regius* (Asso 1801) de crianza (No. VI Jornadas de acuicultura del litoral suratlántico). Cádiz.
- Martínez de Victoria-Muñoz, E., Ortega Hernández-Agero, T., Paseiro-Losada, P., Becerril-Moral, C., 2012. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la evaluación del riesgo asociado al consumo de algas macroscópicas con alto contenido en yodo. España.
- Matanjun, P., Mohamed, S., Mustaha, N.M., Muhammad, K., 2009. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *J. Appl. Phycol.* 21, 75–80. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9326-4>
- Mccall, K.A., Huang, C.-C., Fierke, C.A., 2000. Zinc and health: current status and future directions function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J. Nutr.* 130, 1437–1446. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1437S>
- McDermid, K.J., Stuercke, B., 2003. Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *J. Appl. Phycol.* 15, 513–524. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000004345.31686.7f>
- McNulty, H., Jacob, R.F., Mason, R.P., 2008. Biologic activity of carotenoids related to distinct membrane physicochemical interactions. *Am. J. Cardiol.* 101. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.004>
- Melo, T., Alves, E., Azevedo, V., Martins, A.S., Neves, B., Domingues, P., Calado, R., Abreu, M.H., Domingues, M.R., 2015. Lipidomics as a new approach for the bioprospecting of marine macroalgae - Unraveling the polar lipid and fatty acid composition of *Chondrus crispus*. *Algal Res.* 8, 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.016>
- Mikami, K., Hosokawa, M., 2013. Biosynthetic pathway and health benefits of fucoxanthin, an algae-specific xanthophyll in brown seaweeds. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 13763–13781. <https://doi.org/10.3390/ijms140713763>
- Miyashita, K., 2013. Obesity & Control Therapies: Anti-obesity therapy by food component: unique activity of marine carotenoid, fucoxanthin. *Obes. Control Ther.* Open Access 1, 4.
- Moseley, C.M., 1990. The effect of cultivation conditions on the yield and quality of carrageenans in *Chondrus crispus*, in: *Introduction to Applied Phycology*. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, pp. 565–574.
- Mouritsen, O., 2013. *Seaweeds: edible, available, and sustainable*, The University of Chicago Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Mouritsen, O., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J.L., 2018a. The rise of seaweed gastronomy: phycogastronomy. *Bot. Mar.* in press.

- Mouritsen, O., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J.L., 2018b. World cuisine of seaweeds: Science meets gastronomy. *Int. J. Gastron. Food Sci.* 14, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.09.002>
- Mouritsen, O.G., 2012. The emerging science of gastrophysics and its application to the algal cuisine. *Flavour* 1, 6. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-6>
- Mouritsen, O.G., Dawczynski, C., Duelund, L., Jahreis, G., Vetter, W., Schröder, M., 2013. On the human consumption of the red seaweed dulse (*Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr). *J. Appl. Phycol.* 25, 1777–1791. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0014-7>
- Mouritsen, O.G., Duelund, L., Petersen, M.A., Hartmann, A.L., Frøst, M.B., Hartmann, A.L., 2018. Umami taste, free amino acid composition, and volatile compounds of brown seaweeds. *J. Appl. Phycol.* <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1632-x>
- Mouritsen, O.G., Styrbaek, K., 2014. *Umami: Unlocking the Secrets of the Fifth Taste*.
- Murata, M., Nakazoe, J., 2001. Production and use of marine algae in Japan. *JARQ* 35, 281–290.
- Neveux, N., Bolton, J.J., Bruhn, A., Roberts, D.A., Ras, M., 2018. The bioremediation potential of seaweeds: recycling nitrogen, phosphorus, and other waste products. *Blue Biotechnol.* 217–239. <https://doi.org/10.1002/9783527801718.ch7>
- Ninomiya, K., 2015. Science of umami taste: adaptation to gastronomic culture. *Flavour* 4, 13. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-4-13>
- Nirmal-Kumar, J.I., Kumar, R.N., Amb, M.K., Bora, A., Chakraborty, S., 2010. Variation of biochemical composition of eighteen marine macroalgae collected from Okha coast, Gulf of Kutch, India. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* 9, 404–410. <https://doi.org/10.3126/on.v7i1.2553>
- Nisizawa, K., Noda, H., Kikuchi, R., Watanabe, T., 1987. The main seaweeds in Japan. *Hydrobiologia* 151–152, 5–29. <https://doi.org/10.1007/BF00046102>
- O'Sullivan, A.M., O'Callaghan, Y.C., O'Grady, M.N., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D.J., Kerry, J.P., O'Brien, N.M., 2011. In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chem.* 126, 1064–1070. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.127>
- Olischläger, M., Iñiguez, C., Gordillo, F.J.L., Wiencke, C., 2014. Biochemical composition of temperate and Arctic populations of *Saccharina latissima* after exposure to increased pCO<sub>2</sub> and temperature reveals ecotypic variation. *Planta* 240, 1213–1224. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2143-x>
- Palzer, S., 2009. Food structures for nutrition, health and wellness. *Trends Food Sci. Technol.* 20, 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.02.005>
- Peinado, I., Girón, J., Koutsidis, G., Ames, J.M.M., 2014. Chemical composition, antioxidant activity and sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds. *Food Res. Int.* 66, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.035>
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T.P., Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L.E., 2011. Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Food Chem.* 129, 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.104>
- Pereira, L., Gheda, S.F., Ribeiro-Claro, P.J.A., 2013. Analysis by vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides with potential use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries. *Int. J. Carbohydr. Chem.* 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/537202>
- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Bermejo, R., Peralta-González, G., Brun-Morillo, F., Vergara, J.J., 2012. *Flora marina del litoral gaditano. Biología, ecología, usos y guía de identificación*. Servicio de Publicaciones Universidad de Cádiz.

- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Vergara, J.J., Brun-Morillo, F., León, Á., 2016. *¿Las algas se comen? Un periplo por la biología, la historia, las curiosidades y la gastronomía*. Editorial UCA, Cádiz.
- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Vergara, J.J., Brun, F.G., León, Á., 2018. *Those curious and delicious seaweeds: A fascinating voyage from biology to gastronomy*. UCA Press.
- Pérez, R., 1997. Cesa algues qui nous entourent, conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture, in: *L'Utilisation Des Végétaux Marins*. Plouzné, Ifremer, 65–178.
- Persson, L., 1999. Trophic cascades: abiding heterogeneity and the trophic level concept at the end of the road. *Oikos* 85, 385–397.
- Pévet, P., Haldat-Misra, C., Öcal, T., 1981. Effect of 5-methoxytryptophan and 5-methoxytryptamine on the reproductive system of the male golden hamster. *J. Neural Transm.* 51, 303–311. <https://doi.org/10.1007/BF01248961>
- Pina, A.L., Costa, A.R., Lage-Yusty, M.A., López-Hernández, J., 2014. An evaluation of edible red seaweed (*Chondrus crispus*) components and their modification during the cooking process. *LWT - Food Sci. Technol.* 56, 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.006>
- Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Reina, G.G., Ibá, E., 2010. Screening for bioactive compounds from algae. *J Pharm Biomed Anal.* 51, 450–455. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.03.016>
- Polat, S., Ozogul, Y., 2013. Seasonal proximate and fatty acid variations of some seaweeds from the northeastern Mediterranean coast. *Oceanologia* 55, 375–391. <https://doi.org/10.5697/oc.55-2.375>
- Prabhasankar, P., Ganesan, P., Bhaskar, N., Hirose, A., Stephen, N., Gowda, L.R., Hosokawa, M., Miyashita, K., 2009. Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation. *Food Chem.* 115, 501–508. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.047>
- Ramus, J., Beale, S.I., Mauzerall, D., 1976. Correlation of changes in pigment content with photosynthetic capacity of seaweeds as a function of water depth. *Mar. Biol.* 37, 231–238. <https://doi.org/10.1007/BF00387608>
- Reddy, C.R.K., Jha, B., Fujita, Y., Ohno, M., 2008. Seaweed micro-propagation techniques and their potentials: an overview. *J. Appl. Phycol.* 20, 609–617. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9205-4>
- Rhatigan, P., 2009. Irish Seaweed Kitchen. The comprehensive guide to healthy everyday cooking with seaweeds. Booklink, Ireland.
- Rioux, L.-E.E., Beaulieu, L., Turgeon, S.L., 2017. Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. *Food Hydrocoll.* 68, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.005>
- Rodrigues, D., Freitas, A.C., Pereira, L., Rocha-Santos, T.A.P., Vasconcelos, M.W., Roriz, M., Rodríguez-Alcalá, L.M., Gomes, A.M.P., Duarte, A.C., 2015. Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food Chem.* 183, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.057>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Rowan, K.S., 1989. *Photosynthetic pigments of Algae*. Cambridge University Press, New York.

- Rupérez, P., Ahrazem, O., Leal, J.A., 2002. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 840–845. <https://doi.org/10.1021/jf010908o>
- Sabeena Farvin, K.H., Jacobsen, C., 2013. Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chem.* 138, 1670–1681. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.078>
- Sánchez-García, J., Palacios, V., Roldán, A., 2016. Nutritional potential of four seaweed species collected in the Barbate Estuary (Gulf of Cadiz, Spain). *J. Nutr. Food Sci.* 06, 4–10. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000505>
- Stiger-Pouvreau, V., Bourgougnon, N., Deslandes, E., 2016. Carbohydrates from seaweeds, *Seaweed in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00008-7>
- Sundbo, J., 2016. Food scenarios 2025: Drivers of change between global and regional. *Futures* 83, 75–87. <https://doi.org/10.1016/j.futures.2016.03.003>
- Suresh Kumar, K., Ganesan, K., Selvaraj, K., Subba Rao, P. V., 2014. Studies on the functional properties of protein concentrate of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - An edible seaweed. *Food Chem.* 153, 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.058>
- Sutherland, J.E., Lindstrom, S.C., Vt, C., Nelson, W.A., Brodie, J., Lynch, M.D.J., Hwang, M.S., Oliveira, M.C., Farr, T., Neefus, C., Mols-mortensen, A., Milstein, D., Kirsten, M.M., 2011. A new look at an ancient order: generic revision of the *Bangiales* (Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 47, 1131–1151. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01052.x>
- Thahira Banu, A., Uma Mageswari, S., Thahira-Banu, A., Uma-Mageswari, S., Thahira Banu, A., Uma Mageswari, S., 2015. Nutritional status and effect of seaweed chocolate on anemic adolescent girls. *Food Sci. Hum. Wellness* 4, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.03.001>
- Tiwari, B., Troy, D., 2015. Seaweed Sustainability. *Food and Non-Food Applications*. Academic Press, San Diego, Ca, USA. <https://doi.org/10.1016/978-0-12-418697-2.00001-5>
- Tseng, C.K., 1944. Agar: A Valuable Seaweed Product. *Sci. Mon.* 58, 24–32.
- Villares, R., Carral, E., Puente, X., Carballeira, A., 2005. Metal levels in estuarine macrophytes: Differences among species. *Estuaries* 28, 948–956. <https://doi.org/10.1007/BF02696022>
- Villares, R., Puente, X., Carballeira, A., 2002. Seasonal variation and background levels of heavy metals in two green seaweeds. *Environ. Pollut.* 119, 79–90.
- Villares, R., Puente, X., Carballeira, A., 2001. *Ulva* and *Enteromorpha* as indicators of heavymetal pollution. *Hydrobiologia* 462, 221–232. <https://doi.org/10.1023/A:1013154821531>
- Volpe, R., Sawin, C., 2011. The History and iconography relating to the thyroid gland, in: Wass, J.A.H., Stewart, P.M. (Eds.). *Endocrinology and Diabetes*. Oxford University Press, London.
- Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E., Brawley, S.H., 2017. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J. Appl. Phycol.* 29, 949–982. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0974-5>
- Yaich, H., Garna, H., Bchir, B., Besbes, S., Paquot, M., Richel, A., Blecker, C., Attia, H., 2015. Chemical composition and functional properties of dietary fibre extracted by Englyst and Prosky methods from the alga *Ulva lactuca* collected in Tunisia. *Algal Res.* 9, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.017>

- Yufera, M., Arias, A.M., 2010. Traditional polyculture in " Esteros " in the Bay of Cádiz ( Spain ). Hopes and expectancies for the prevalence of a unique activity in Europe. *Aquac. Eur.* 35, 22–25.
- Zbikowski, R., Szefer, P., Latała, A., 2006. Distribution and relationships between selected chemical elements in green alga *Enteromorpha* sp. from the southern Baltic. *Environ. Pollut.* 143, 435–448. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.007>



## Índice de figuras

<b>Figura 1.1.</b> Planeta Tierra observado desde el espacio .....	5
<b>Figura 1.2.</b> Ilustración de los seres vivos más grandes del océano .....	7
<b>Figura 1.3.</b> <i>Delesseria sanguinea</i> (rodofita) (a), <i>Padina pavonia</i> (feoficea) (b), <i>Ulva latissima</i> (clorofita)(c) .....	7
<b>Figura 1.4.</b> Principales parámetros que influyen en la productividad de las algas .....	8
<b>Figura 1.5.</b> Acuicultura de algas en Zanzíbar y Tokio .....	9
<b>Figura 1.6.</b> Cocina creativa, chefs jugando con los colores y sabores de las algas .....	22
<b>Figura 1.7.</b> Aplicación de algas y extractos de algas en el desarrollo de nuevos productos alimentarios .....	25
<b>Figura 1.8.</b> Algas estudiadas en el caladero de Barbate, Cádiz. ....	27
<b>Figura 1.9.</b> Corte transversal de una salina, indicando las zonas y los minerales que se acumulan durante la evaporación .....	29
<b>Figura 1.10.</b> Logo de ASEMA y la marca creada para la distinción del pescado de estero .....	29
<b>Figura 1.11.</b> Vista aérea de la Salina La Esperanza .....	30
<b>Figura 1.12.</b> Lechuga de mar fresca y vista al microscopio en el laboratorio.....	31

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.1.</b> Reinos taxonómicos que recogen los diferentes tipos de algas existentes .....	6
<b>Tabla 1.2.</b> El uso de algas marinas por los humanos a lo largo del tiempo .....	11
<b>Tabla 1.3.</b> Consumo anual de algas en distintos países .....	12
<b>Tabla 1.4.</b> Niveles de proteína en algunas algas marinas utilizadas por la industria alimentaria ....	15
<b>Tabla 1.5.</b> Distintos usos y funciones de los ficocoloides en la industria alimentaria .....	21
<b>Tabla 1.6.</b> Color sabor y textura de las principales algas empleadas en cocina .....	23





## Capítulo 2

# Caracterización de las propiedades del alga verde *Ulva rigida* recolectada en los esteros gaditanos

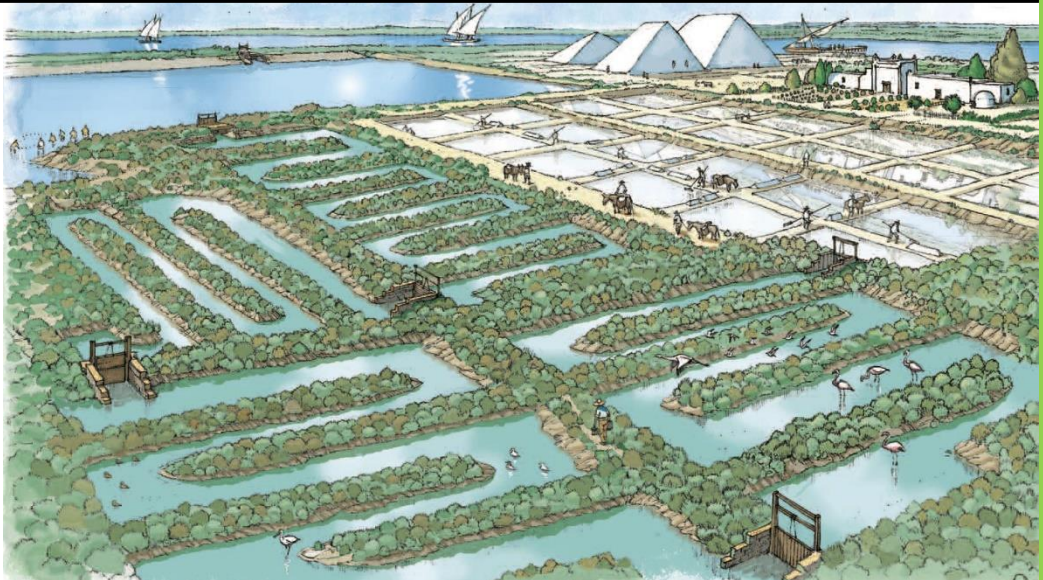


Imagen publicada en el libro "*Agua, Territorio y Ciudad. Cádiz de la Constitución, 1812*", (2009)

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 2



# INDICE

<b>2. Caracterización de las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas del alga verde <i>Ulva rigida</i> recolectada en los esteros gaditanos</b>	55
<b>2.1. Resumen</b>	55
<b>2.2. Introducción</b>	56
<b>2.3. Material y métodos</b>	60
2.3.1. <i>Recolección y preparación de muestras</i>	60
2.3.2. <i>Parámetros fisicoquímicos del agua de mar</i>	61
2.3.3. <i>Determinación de la composición proximal</i>	61
2.3.4. <i>Determinación de ácidos grasos</i>	63
2.3.5. <i>Determinación de aminoácidos</i>	64
2.3.6. <i>Determinación de capacidad antioxidante y clorofilas</i>	65
2.3.7. <i>Determinación de propiedades tecnológicas</i>	66
2.3.8. <i>Análisis estadístico</i>	67
<b>2.4. Resultados y discusión</b>	68
2.4.1. <i>Parámetros fisicoquímicos del agua de mar</i>	68
2.4.2. <i>Composición proximal</i>	70
2.4.3. <i>Contenido en ácidos grasos</i>	76
2.4.4. <i>Contenido en aminoácidos</i>	78
2.4.5. <i>Capacidad antioxidante y contenido en clorofilas</i>	80
2.4.6. <i>Propiedades tecnológicas</i>	82
2.4.7. <i>Análisis de componentes principales</i>	84
<b>2.5. Conclusiones</b>	87
<b>2.6. Bibliografía</b>	88
<b>Índice de figuras</b>	94
<b>Índice de tablas</b>	94



## **2. Caracterización de las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas del alga verde *Ulva rigida* recolectada en los esteros gaditanos**

### **2.1. Resumen**

Este estudio tiene como objetivo caracterizar el alga verde *Ulva rigida* recolectada en los esteros de la Bahía de Cádiz, utilizados tradicionalmente para la extracción de sal marina y actualmente para la acuicultura. Dicha caracterización del alga se basó en la determinación de sus propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas a través del análisis de su composición proximal, contenido mineral, ácidos grasos, aminoácidos, capacidad antioxidante, clorofilas, capacidad de hinchamiento, capacidad de retención de agua y aceite en las diferentes estaciones del año. También se analizaron los parámetros fisicoquímicos del agua de mar (temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, nitratos, nitritos, amonio y fosfato) para evaluar su influencia sobre las propiedades del alga.

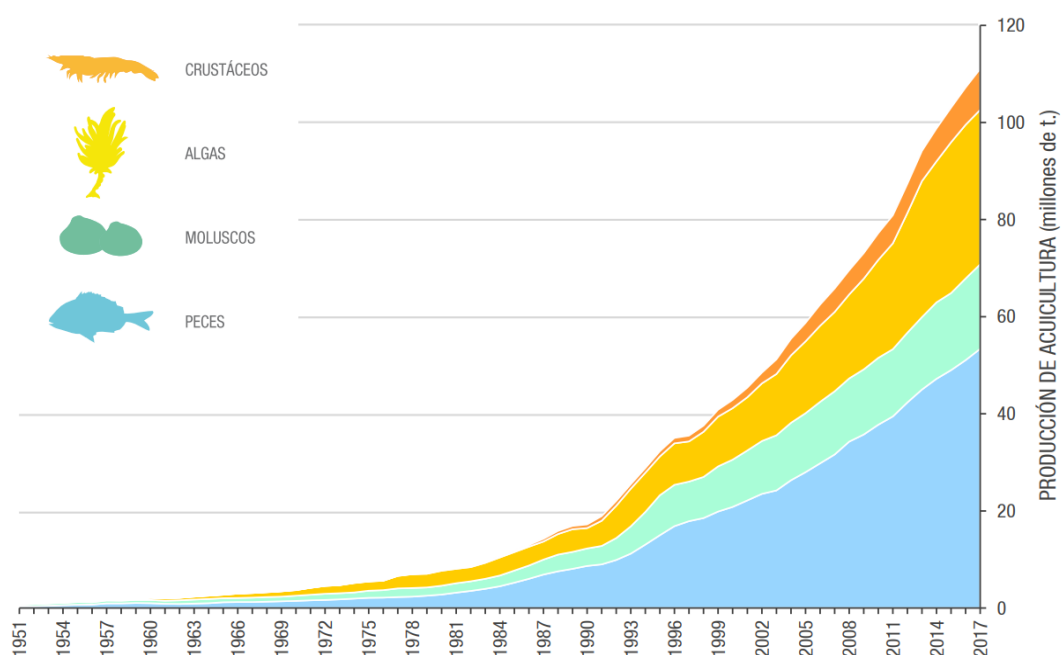
Los resultados muestran que *U. rigida* procedente de los esteros es una fuente rica en proteínas, lípidos, ácidos grasos, aminoácidos, y minerales tales como K, Ca, Mg y Zn, con una ratio Na/K y Ca/Mg inferior a uno y alta capacidad de retención de agua y aceite. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el sistema de cierre de compuertas en verano para la producción de sal, modifica significativamente las características fisicoquímicas en la salina. Dicha actuación influye la capacidad fisiológica de *U. rigida* para asimilar y almacenar nutrientes y, en consecuencia, afecta a sus propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas.

Este estudio muestra que *U. rigida* recolectada en los esteros es una fuente de alimentos nutritiva y saludable idónea para su uso como materia prima o ingrediente alimentario para su consumo directo o desarrollo de nuevos productos con algas. Además, su recolección y cultivo sostenibles pueden permitir el desarrollo industrial de la Bahía de Cádiz.



## 2.2. Introducción

Los productos marinos como el pescado y las algas tienen un gran potencial como recursos alimentarios (Mahalik y Kim, 2014). En el caso de las algas, según la FAO (2016), entre los años 2010 y 2014, se ha producido un aumento del 43% de la recolección de algas marinas y su cultivo ha crecido rápidamente, realizándose actualmente esta actividad en aproximadamente 50 países del mundo (Figura 2.1.) (Chung *et al.*, 2017; FAO, 2016).



**Figura 2.1.** Evolución de la producción de acuicultura mundial (millones de t.), por grupos, para el periodo 1950-2017 (FAO). Imagen del informe anual (APROMAR, 2019).

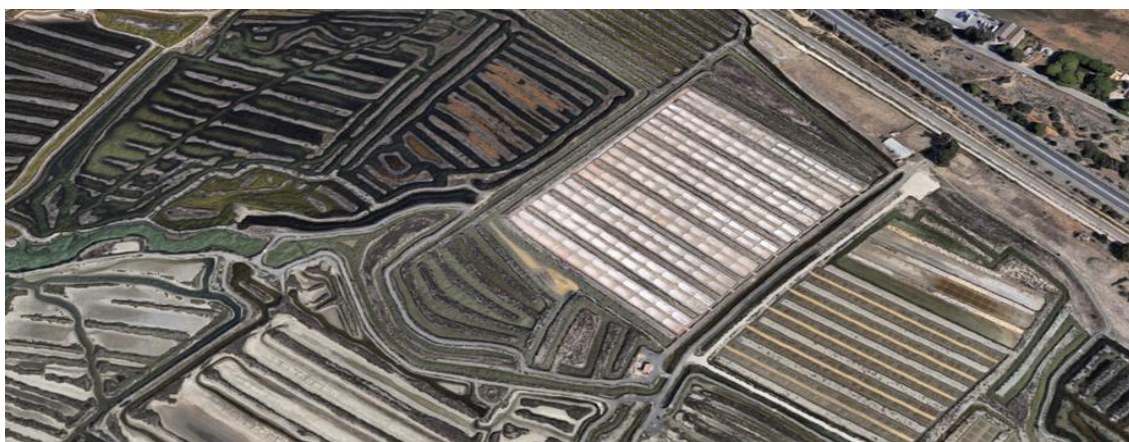
Las algas son un recurso abundante, económico y atractivo para ser utilizado como alimento o ingredientes alimentarios. Además, el mercado de alimentos funcionales está en auge, aumentando una tasa anual del 15-20% (Viuda-Martos *et al.*, 2010) y las algas marinas se consideran cada vez más como un recurso natural rico en ingredientes que promueven la salud (incluidas las proteínas de alta calidad, fibra dietética, polisacáridos, ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), minerales, vitaminas, pigmentos y fitoquímicos como los polifenoles (Chan y Matanjun, 2017; Paiva *et al.*, 2017). Estas características les aportan a las algas marinas un gran potencial como complemento en alimentos funcionales o extracción de gran variedad de compuestos bioactivos (Chan y Matanjun, 2017; Holdt y Kraan, 2011).

La creciente demanda de alimentos funcionales por parte de los consumidores ha estimulado el interés de investigar más a fondo la funcionalidad de las algas marinas y su aplicación en la industria de alimentos funcionales y productos farmacéuticos (Chan y Matanjun, 2017). Varios estudios han demostrado los beneficios que su consumo, ya sea directo o como suplemento dietético, aportan para la salud (Rioux *et al.*, 2017; Roohinejad *et al.*, 2017; Yaich *et al.*, 2011). Contienen lípidos, proteínas, minerales esenciales, vitaminas y fibra dietética y se consideran una fuente calórica potencial para cubrir los requerimientos globales de las futuras necesidades alimentarias (Chan y Matanjun, 2017; Roohinejad *et al.*, 2017; Sakthivel y Pandima Devi, 2015).

Sin embargo, se debe tener en cuenta que su composición química depende de la especie, el hábitat, la época de recolección y las condiciones ambientales y ecológicas (Boulom *et al.*, 2014; Chan y Matanjun, 2017), de ahí que sea necesaria una comprensión más profunda de su composición bioquímica, para caracterizar y distinguir las mejores algas marinas como un nuevo recurso alimentario (Nunes *et al.*, 2017). Durante los últimos tres mil años en Asia, los beneficios nutricionales y saludables del consumo de algas han sido bien conocidos, pero ahora la conciencia de estas propiedades está aumentando en Europa (Kumar *et al.*, 2015). En este contexto, los consumidores han empezado a degustar algas marinas distribuidas principalmente en tiendas gourmet de alimentos y restaurantes. Esto parecía estar impulsado por el movimiento holístico de alimentos saludables, pero ahora aparentemente se debe a la demanda de alimentos nuevos y saludables que se pueden producir de manera sostenible (Mouritsen, 2012).

Por otra parte, las algas marinas no solo proporcionan nutrientes y compuestos bioactivos, sino que también tienen propiedades tecnológicas que las hacen viables para desarrollar diferentes productos (Chan y Matanjun, 2017; Quitral *et al.*, 2012). La proteína contribuye a las propiedades tecno-funcionales de los productos alimenticios y pueden actuar como agentes emulsionantes y modificadores de textura, además de ayudar con la absorción de grasa y agua (Ogunwolu *et al.*, 2009). La incorporación de algas y/o extractos de algas al sistema alimentario puede mejorar la vida útil, las propiedades nutricionales, texturales, organolépticas, sensoriales y de salud de los productos finales (Roohinejad *et al.*, 2017).

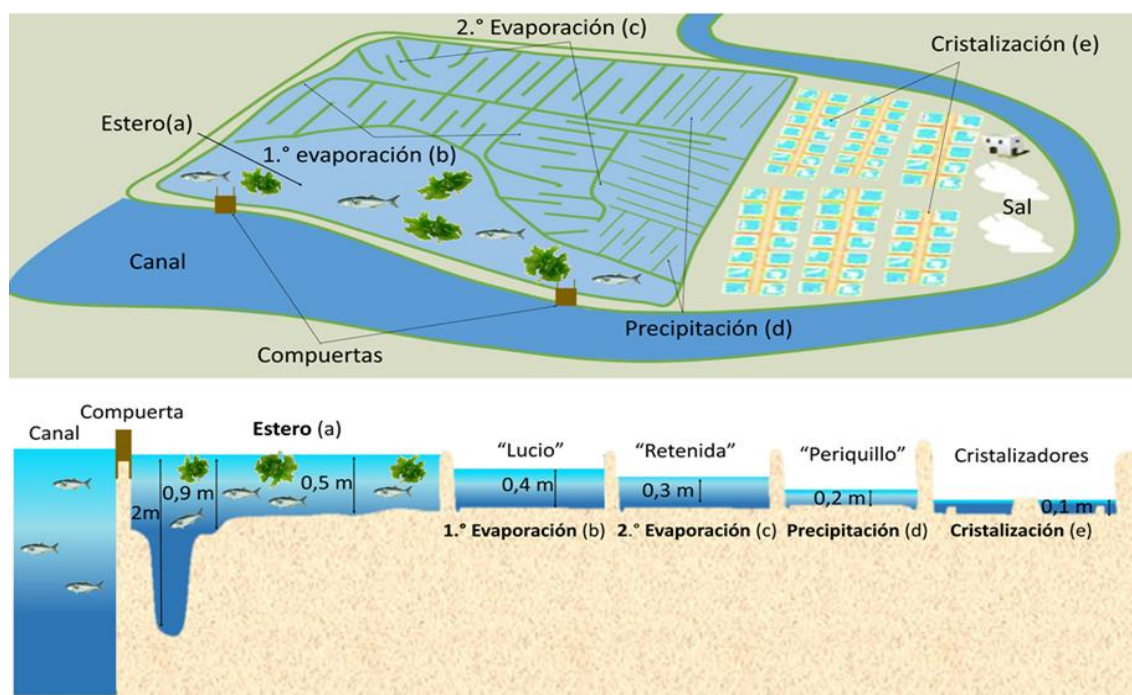
Actualmente, el interés en las algas se ha centrado en los Ulvales como un producto alimenticio novedoso y se está expandiendo en los países occidentales (Mouritsen *et al.*, 2018; Peña-Rodríguez *et al.*, 2011; Rioux *et al.*, 2017). El género *Ulva* (Chlorophyta) ya se utiliza como condimento alimentario en Asia y como suplemento nutricional en países como Estados Unidos, Japón, China, Chile y Francia (Rioux *et al.*, 2017). En el sur de España, concretamente en la Bahía de Cádiz, *Ulva* spp. es uno de los géneros más abundantes tanto en la zona costera como en los esteros de esta zona (Bermejo *et al.*, 2012; Pérez-Lloréns *et al.*, 2004). Los esteros son marismas de origen natural (Figura 2.2.) que se encuentran situados en el Parque Natural de la Bahía de Cádiz y que tradicionalmente se han utilizado para la producción de sal y más recientemente para la acuicultura (Drake y Arias, 1997; Gracia *et al.*, 2017). Para la producción de sal, en el sistema de esteros se aprovechan las mareas, las leves pendientes y el cierre de compuertas construidas para crear marismas inundables que favorezcan la evaporación del agua para concentrar la sal marina y llevar a cabo su extracción en verano (Gracia *et al.*, 2017).



**Figura 2.2.** Vista aérea de la Salina La Esperanza, Puerto Real (Google Maps).

Los esteros son lugares utilizados para el almacenamiento de agua (Figura 2.3. (a)) en una salina costera tradicional. Este sistema de producción de sal incluye además de los esteros, estanques para la evaporación (b y c), un área de precipitación de sal (d) y los cristalizadores (e), donde finalmente se obtiene la sal. Cada estanque tiene una profundidad particular que disminuye progresivamente para precipitar la sal al final del proceso.

Las condiciones y características ambientales especiales que presentan estos esteros durante todo el año permiten el desarrollo de una gran diversidad de especies animales y vegetales. Sin embargo, la mayoría de estas zonas están actualmente en desuso (Gracia *et al.*, 2017) lo que podría generar una regresión ambiental por el sedimento acumulado en los esteros y la falta de circulación de agua, causando una pérdida de biodiversidad, el deterioro físico y ambiental.



**Figura 2.3.** Estructura de una salina costera tradicional. Entre comillas, los nombres coloquiales de los diferentes estanques que marcan la disminución de la profundidad para la evaporación del agua.

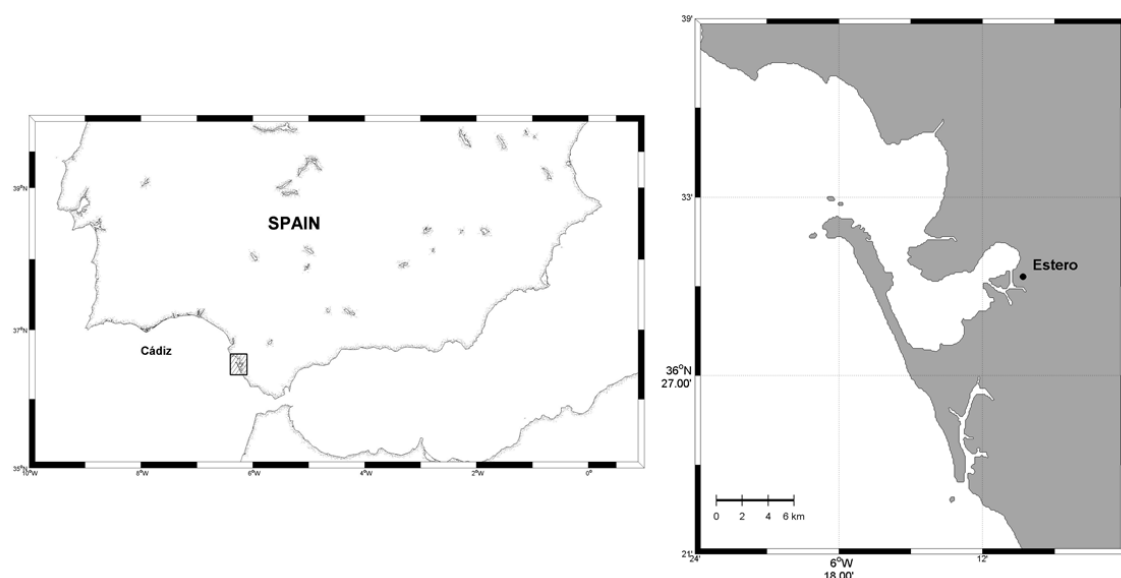
Por consiguiente, llevar a cabo alternativas sostenibles adicionales, como la explotación de algas marinas con fines alimentarios, puede ser una nueva actividad comercialmente complementaria y potencialmente rentable que podría conducir a la creación de nuevas empresas en el área (Bermejo *et al.*, 2018) y generar empleo en la llamada "economía azul".

El objetivo de este estudio ha sido determinar la composición proximal, las propiedades funcionales y las propiedades tecnológicas de *Ulva rigida* recolectada en los esteros de la Bahía de Cádiz a lo largo del año con fines comerciales para su uso en la industria alimentaria como materia prima o ingrediente alimentario.

## 2.3. Material y métodos

### 2.3.1. Recolección y preparación de muestras

Las muestras de *Ulva rigida* se recolectaron en los esteros situados en la salina “La Esperanza” (Figura 2.4.) (Puerto Real, Cádiz) dentro del Parque Natural de la Bahía de Cádiz.



**Figura 2.4.** Mapa del área de recolección de *U. rigida* en los esteros de la salina La Esperanza (36,51 N, 6,16 W), realizado por Marina Bolado-Penagos.

La recolección de muestras (1,5 kg) se realizó en los meses de febrero, mayo, agosto y octubre de 2015, (invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente), a una profundidad de 0,5-1,5 metros y se almacenaron en bolsas de plástico con agua de mar para evitar su deshidratación durante su traslado al laboratorio en una nevera portátil. Una vez en el laboratorio se eliminaron cuidadosamente los epífitos y la arena incrustada mediante un primer lavado con agua de mar y posteriormente un segundo lavado con agua dulce, antes de su congelación a -80 °C. Una vez congeladas, las muestras se liofilizaron empleando un liofilizador (Virtis K, SP Scientific, USA) y se mantuvieron en oscuridad en un desecador hasta su posterior análisis.

### 2.3.2. *Parámetros fisicoquímicos del agua de mar*

En cada muestreo estacional se analizaron los nutrientes inorgánicos del agua de mar, la temperatura, la salinidad, el pH y el oxígeno disuelto (OD). La temperatura, pH y OD se midieron a 0,2 m de profundidad utilizando una sonda portátil multiparamétrica modelo sensION+, pH 1 y DO6 (HACH©, Loveland, EEUU) (Figura 2.5.). La salinidad se determinó usando un refractómetro modelo S-20E (ATAGO CO, LTD, Tokio, Japón) (Figura 2.5.). Para medir los nutrientes inorgánicos disueltos ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ ) se tomaron muestras de 10 mL de agua de mar filtrada por un filtro Whatman (GF/ F, 0,7  $\mu\text{m}$ ) y las determinaciones se realizaron mediante un autoanalizador Skalar SAN++CFA (Skalar Analytical B. V., Países Bajos). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.



**Figura 2.5.** Sonda multiparamétrica (izquierda) y refractómetro (derecha).

### 2.3.3. *Determinación de la composición proximal*

Las muestras de algas se analizaron para determinar humedad, cenizas, proteínas, carbohidratos y fibra según los procedimientos de AOAC (2006). Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en peso seco (PS), excepto la humedad que se expresó en peso fresco (PF). El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso entre la muestra fresca y seca a 105 °C en una estufa modelo Digiheat-TFT (Selecta, España) hasta alcanzar un peso constante. El contenido total de cenizas se determinó gravimétricamente después de calentar a 550 °C las muestras durante 24 horas en un horno mufla (Carbolite ELF 11/148, Reino Unido). El contenido de proteínas se determinó mediante el método de Kjeldahl (Figura 2.6.) y se cuantificó



utilizando un factor de conversión (6,25) para obtener el contenido en proteína total a partir del contenido en nitrógeno total de la muestra (Fernández-Segovia *et al.*, 2018; Naidu *et al.*, 1993).



**Figura 2.6.** Determinación de proteínas: digestión, destilación y valoración de las muestras de izquierda a derecha de la imagen.

La extracción de lípidos (Figura 2.7.) se realizó de acuerdo con el método de Folch *et al.* (1957) usando una mezcla de cloroformo/metanol. Se añadió 1 g de muestra liofilizada en un tubo de vidrio con 14 mL de mezcla de cloroformo/ metanol (2:1 v/v). Una vez que obtenido el extracto, se filtró a través de papel de filtro Whatman (nº 41) y el residuo se lavó y filtró dos veces con 5 mL de la misma mezcla. Finalmente, el extracto se secó bajo una corriente de nitrógeno. El peso final del extracto resultante se usó para calcular el contenido total de lípidos (Boulom *et al.*, 2014).



**Figura 2.7.** Extracción de lípidos, filtrado y secado del extracto con nitrógeno líquido de izquierda a derecha de la imagen.

El contenido total de fibra se analizó atendiendo al método enzimático-gravimétrico AOAC (2006) y los carbohidratos totales se calcularon por diferencia restando el contenido de proteínas, lípidos, fibras y cenizas en peso seco (AOAC, 2006).

Las cenizas de *U. rigida* obtenidas por el método descrito en el apartado anterior (2.3.3.) se disolvieron con 30 mL de mezcla ácida (20% de ácido clorhídrico y 50% de ácido nítrico). La mezcla se agitó durante 15 minutos a temperatura media (40 °C), posteriormente, se filtró utilizando un papel de filtro libre de cenizas en un matraz volumétrico de 50 mL, y finalmente se enrasó el matraz con agua bidestilada (Yaich *et al.*, 2011). Los macro minerales: sodio (Na), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg) y los micro minerales: hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu) se determinaron usando un espectrómetro de emisión atómica (ICP-AES) modelo Iris Intrepid (Thermo Elemental, Reino Unido). El arsénico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), mercurio (Hg), níquel (Ni), plomo (Pb) y estaño (Sn), se determinaron usando espectrómetro de masas de plasma inductivo acoplado (ICP-MS) Agilent Serie 7700 (Agilent Technologies, Inc., CA, EE. UU.). Las concentraciones de los elementos se determinaron a partir de curvas de calibración de estándares y los resultados se expresaron en mg 100 g<sup>-1</sup> de peso seco. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

#### 2.3.4. Determinación de ácidos grasos

La determinación del perfil de ácidos grasos y aminoácidos libres del siguiente apartado (2.3.5.) se llevaron a cabo durante la estancia internacional en el CIDTA, Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Algas y otros Recursos Biológicos, en la Universidad Católica del Norte de Coquimbo, en Chile.

El perfil de ácidos grasos se determinó a partir de la extracción de lípidos por el método de Folch *et al.* (1957) detallado en el apartado anterior. Los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) de lípidos totales se derivatizaron mediante transmetilación con trifluoruro de boro/metanol (BF<sub>3</sub>MeOH) al 14%. Después se obtuvieron los FAMES mediante extracción líquido-líquido con hexano y se lavaron con NaCl al 20%. La fase orgánica se evaporó con un rotavapor (DLab Scientific Inc, RE100-PRO, EEUU) y se resuspendió en 1 mL de hexano. Los FAMES se analizaron con un cromatógrafo de gases modelo Clarus 600 FID (PerkinElmer, USA).



Los estándares utilizados para la cuantificación fue el FAME de 37 componentes de Sigma (nº CRM47885, St. Louis, MO, USA). Todas las mediciones se realizaron por duplicado.

### 2.3.5. Determinación de aminoácidos

Para la determinación de aminoácidos se utilizaron 200 mg de PS del alga y se le realizaron dos extracciones mediante la adición de 600 µL de una mezcla de H<sub>2</sub>O CHCl<sub>3</sub>/MeOH (3:5:12). Se recuperó el sobrenadante de cada extracción, agregando 300 µL de cloroformo y 450 µL de agua. El extracto se centrifugó a 12000 rpm durante 5 minutos y se recuperó la fracción acuosa, la cual se llevó a sequedad en un rotavapor (DLab Scientific Inc, RE100-PRO, EEUU). El residuo se resuspendió en 200 µL de agua desionizada grado HPLC y se filtró usando un filtro de jeringa de 0,22 µm de celulosa mixta (MCM). Los aminoácidos libres se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución de acuerdo al método descrito por Henderson *et al.* (2000) con algunas modificaciones. Los extractos se derivatizaron antes de la columna usando orto-ftaldehído (OPA), como reactivo de derivatización.

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura del horno fue de 40 °C, inyección de 10 µL de muestra, velocidad de flujo 2 mL min<sup>-1</sup>; columna ZORBAX Eclipse AAA de 150 x 4,6 mm; dos fases móviles, A, tampón de borato (pH 7,8) y B, acetonitrilo/metanol; agua (90:90:10). El gradiente consistió en 0% de B durante 1,9 min, después se aumenta 42% de B durante 18,5 min, pasado ese tiempo se aumenta 100% de B durante 22,3 min y se mantiene constante durante 4 min. Finalmente, se vuelve al 0% de B durante 23,6 min y se mantiene constante durante 2 min. Las mediciones se llevaron a cabo en un modelo HPLC-DAD Jasco (MD-2015 plus), controlado con el software Chrompass. La detección se realizó registrando los espectros entre 240-400 nm y la medición se realizó a 338nm. Todas las mediciones se realizaron por duplicado.

Dicha metodología se encuentra en preparación para ser publicada por el grupo de investigación del CIDTA.

### 2.3.6. Determinación de capacidad antioxidante y clorofilas

La capacidad antioxidante se determinó por el método DPPH descrito por Blois (1958). Se tomó un gramo de muestra húmeda y se le adicionaron 29 mL de metanol al 80%. La mezcla se agitó vigorosamente y posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 15 min a 4 °C (Chitravathi *et al.*, 2015). Para realizar la determinación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo una reacción en oscuridad con DPPH. Se preparó una solución de DPPH a 100 µM en metanol al 80%. Se añadieron 0,1 mL del extracto y 2,9 mL de la solución DPPH en todas las muestras excepto en el control, en la que se empleó 0,1 mL de metanol al 80% y 2,9 mL de la solución DPPH. Todas las muestras se agitaron vigorosamente y se dejó llevar a cabo la reacción en oscuridad durante 30 minutos (Kim *et al.*, 2002). Pasado ese tiempo se midió la absorbancia a 517 nm utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific™ UV Vis Genesys 10S (USA). La capacidad antioxidante se expresó como equivalentes de Trolox (µmol TE g<sup>-1</sup> PF).

La determinación de pigmentos se realizó siguiendo la metodología de Kumar *et al.* (2010) con algunas modificaciones. Se preparó una disolución saturada de acetona con MgCO<sub>3</sub> y se tomaron 10 mL para mezclarla en un mortero con 1 g de la muestra cruda o cocinada molturándola durante 10 minutos hasta su homogenización. Seguidamente el extracto se pasó a un tubo de rosca previa filtración con filtro Whatman No.1. Esta operación se realizó varias veces hasta obtener un volumen final de extracción de 20 mL. Dicho proceso se realizó por triplicado para cada uno de los tratamientos y para la muestra cruda. Para la determinación de los pigmentos se usaron cubetas de cuarzo y un espectrofotómetro UV/Vis Modelo U-2001 (Hitachi, Japón), con el cual se realizó un barrido desde 300 a 700 nm y usando como blanco la mezcla empleada para la extracción. Las absorbancias de clorofilas a (Cla) y b (Clb) se determinaron a longitudes de onda (A, absorbancia) de 663 y 645 nm, respectivamente. Las concentraciones de los pigmentos (mg g<sup>-1</sup> PS) se calcularon mediante las ecuaciones de Lichtenthaler y Wellburn (1983) para acetona (100%):

$$Cla = 11,75A_{663} - 2,35A_{645}$$

$$Clb = 18,61A_{645} - 3,96A_{663}$$

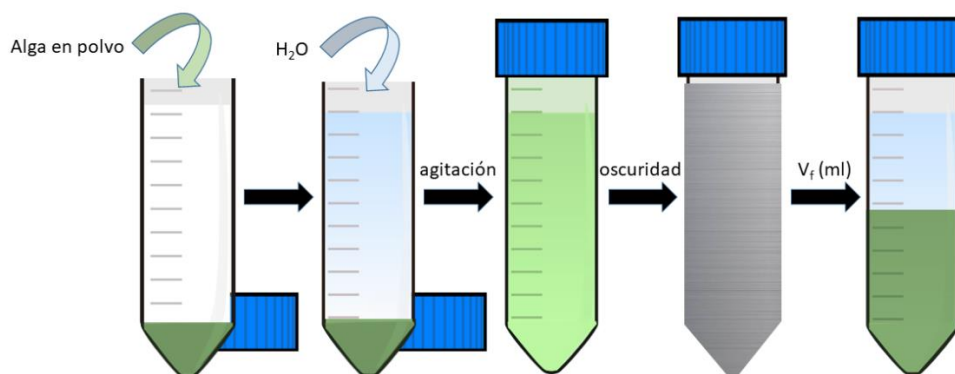
Ambas mediciones se realizaron por triplicado.

### 2.3.7. Determinación de propiedades tecnológicas

La capacidad de hinchamiento (CH), la capacidad de retención de agua (CRA) y la capacidad de retención de aceite (CRAC) de *U. rigida* se midieron de acuerdo con los métodos descritos por Fernández-Segovia *et al.* (2018).

La capacidad de hinchamiento (CH) se determinó agregando 500 mg de alga en polvo dentro de unos tubos cónicos graduados y se añadieron 10 mL de agua destilada. Después de agitar, los tubos se cubrieron con papel de aluminio y se dejaron en oscuridad durante 18 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, el volumen ocupado por el alga se determinó en la escala del tubo. La CH se determinó con la siguiente fórmula:

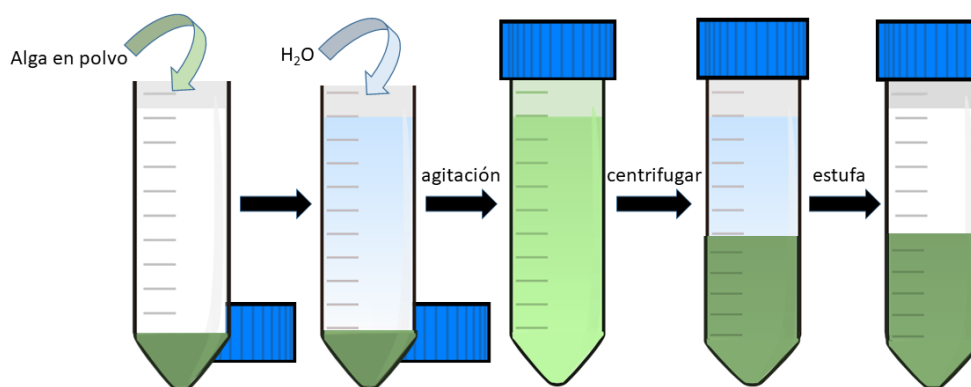
$$CH = \frac{\text{mL ocupado por el residuo}}{\text{g de alga seca}}$$



**Figura 2.8.** Pasos a seguir para la determinación de CH.

La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó empleando 500 mg de *U. rigida* en polvo añadidos a tubos de centrifuga. Después se agregaron 30 mL de agua destilada y se agitó suavemente para mezclar completamente ambas. La mezcla se centrifugó a 10.000 rpm durante 20 minutos a 20 °C. El residuo se pesó y la CRA se calculó con la siguiente fórmula:

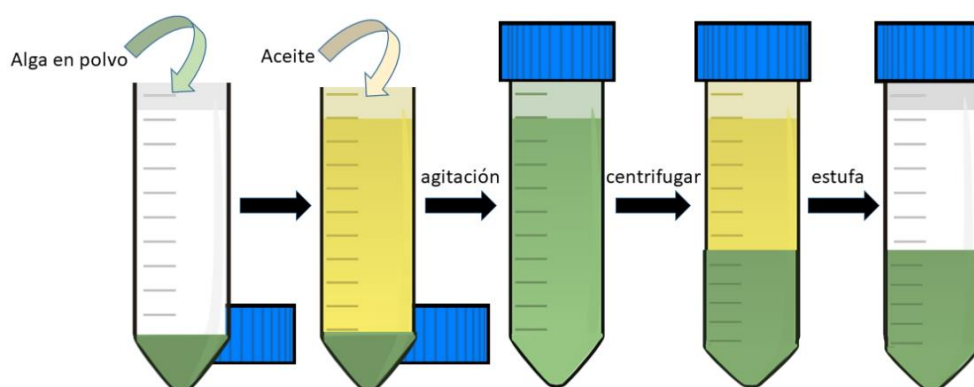
$$CRA = \frac{\text{g de agua retenida}}{\text{g de alga seca}}$$



**Figura 2.9.** Pasos a seguir para la determinación de CRA.

La capacidad de retención de aceite (CRAC) se determinó con el mismo protocolo que el descrito para CRA, excepto que se usó aceite de oliva virgen en vez de agua destilada. Se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{CRA} = \frac{\text{g de aceite retenido}}{\text{g de alga seca}}$$



**Figura 2.10.** Pasos a seguir para la determinación de CRAC.

### 2.3.8. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de diferencia significativa con el test de Tukey, utilizando el software GraphPad Prism, versión 6.01 para Windows (San Diego, CA, EE. UU.), para analizar la importancia de la diferencia entre composición proximal, contenido mineral, propiedades funcionales y propiedades tecnológicas de *U. rigida* y variables fisicoquímicas a lo largo del año.

El coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) también se determinó para la composición de *Ulva rigida* y los parámetros fisicoquímicos en las diferentes estaciones del año. Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) utilizando el paquete estadístico SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Se utilizó la carga de matriz de componentes rotados con "quartimax" y la normalización de Kaiser como factor de extracción.

## 2.4. Resultados y discusión

### 2.4.1. Parámetros fisicoquímicos del agua de mar

Como se puede observar en la Tabla 2.1. todos los parámetros fisicoquímicos del agua de mar muestran diferencias significativas entre las diferentes estaciones del año. Tanto la temperatura como la salinidad alcanzan valores medios de  $20,71 \pm 9,75$  °C y  $38,65 \pm 4,15$  psu, respectivamente. Los valores más bajos de temperatura y salinidad se alcanzan en invierno debido al aporte de agua dulce de las aguas de escorrentía y favorecido por la poca profundidad y volumen de agua en los esteros (Gracia *et al.*, 2017; Pérez-Hurtado, 2004).

**Tabla 2.1.** Variables fisicoquímicas del agua de mar en el área de estudio: temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto (OD), nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ), amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), a lo largo del año.

Variables fisicoquímicas	Estaciones				Promedio Anual
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	
Temperatura (°C)	$9,42 \pm 2,01^d$	$23,70 \pm 1,61^b$	$32,43 \pm 1,05^a$	$17,30 \pm 1,54^c$	$20,71 \pm 9,75$
Salinidad (psu)	$33,05 \pm 1,58^c$	$39,10 \pm 1,05^b$	$43,07 \pm 1,10^a$	$39,37 \pm 1,18^b$	$38,65 \pm 4,15$
pH	$8,46 \pm 0,12^a$	$8,18 \pm 0,09^b$	$8,04 \pm 0,02^c$	$7,99 \pm 0,04^c$	$8,17 \pm 0,21$
OD (mg L <sup>-1</sup> )	$9,49 \pm 0,72^a$	$5,29 \pm 0,13^c$	$8,44 \pm 0,42^b$	$8,65 \pm 0,14^b$	$7,97 \pm 1,84$
$\text{NO}_3^-$ (μM)	$2,16 \pm 0,04^c$	$2,48 \pm 0,05^b$	$10,02 \pm 0,05^a$	$0,78 \pm 0,05^d$	$3,86 \pm 4,17$
$\text{NO}_2^-$ (μM)	$0,35 \pm 0,03^a$	$0,27 \pm 0,02^b$	$0,20 \pm 0,01^c$	$0,10 \pm 0,02^d$	$0,23 \pm 0,11$
$\text{NH}_4^+$ (μM)	$4,59 \pm 0,70^b$	$7,50 \pm 1,25^a$	$6,07 \pm 0,82^{ab}$	$4,47 \pm 0,75^b$	$5,64 \pm 1,45$
$\text{PO}_4^{3-}$ (μM)	$0,06 \pm 0,02^d$	$0,31 \pm 0,03^a$	$0,24 \pm 0,02^b$	$0,14 \pm 0,03^c$	$0,19 \pm 0,11$

a, b, c, d Los superíndices diferentes para la misma fila indican diferencias significativas entre las variables fisicoquímicas y la estación según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD. También se indica el valor promedio anual de todas las variables.

En contraste, los valores más altos se registran en verano y se deben a la evaporación del agua durante la temporada de calor (Burgos *et al.*, 2018), favorecida por el cierre de compuertas en la salina desde finales de mayo a principios de octubre. Este cierre impide la entrada del agua y su renovación, favorece el aumento de la temperatura y, en consecuencia, la concentración de sal como resultado de la evaporación del agua de mar (Gracia *et al.*, 2017).

El pH (Tabla 2.1.), con un valor promedio de  $8,17 \pm 0,21$ , varía ligeramente según la época del año, tal y como se ha mostrado en estudios previos (Duarte *et al.*, 2013; Gonski *et al.*, 2018). Los valores más bajos se alcanzan en verano y principios de otoño, periodo que coincide con el cierre de las compuertas y, por tanto, una alta salinidad por evaporación, lo que conlleva a una interrupción de la fotosíntesis de las algas (Duarte *et al.*, 2013; Sudhir y Murthy, 2004) y favorece la respiración.

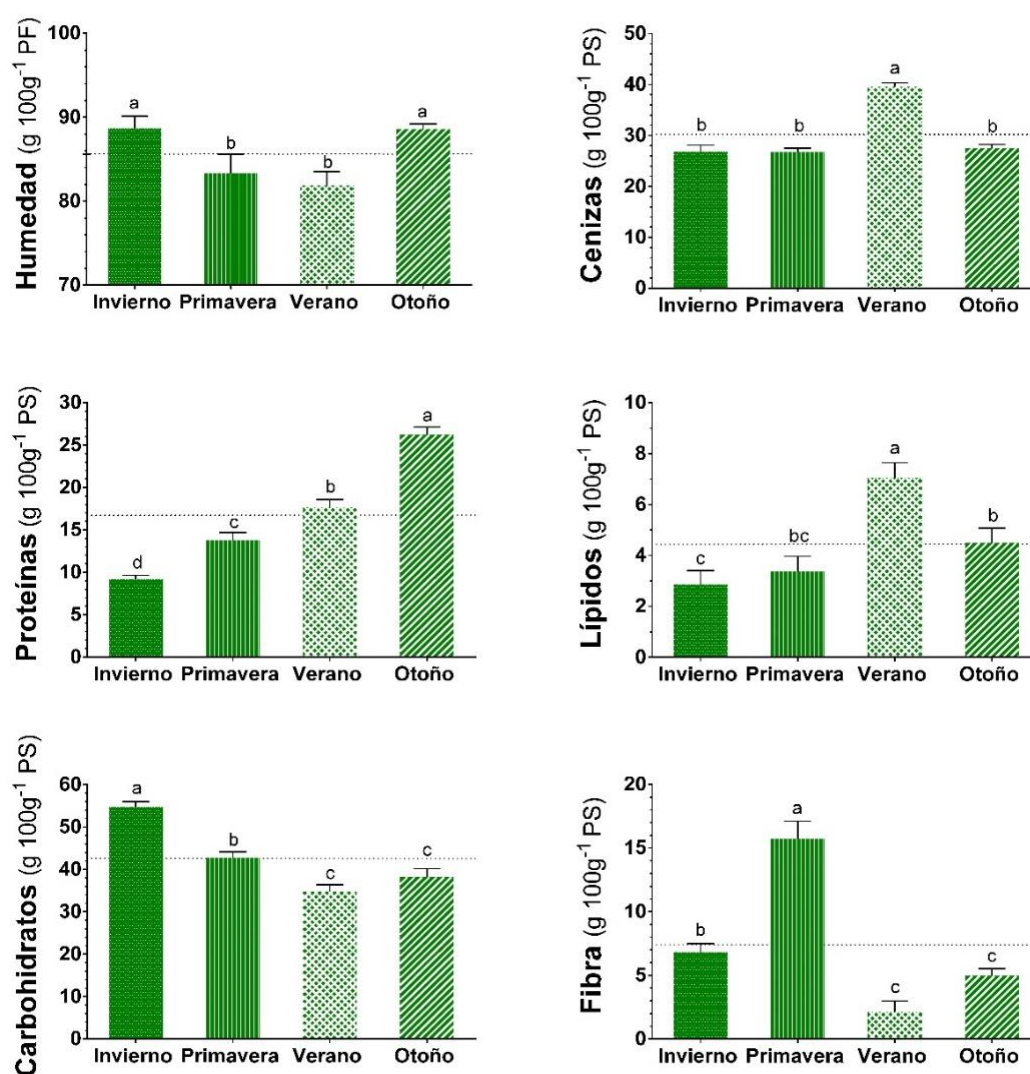
Las concentraciones medias de oxígeno disuelto (Tabla 2.1.) durante todo el año muestran una variabilidad de  $7,97 \pm 1,84 \text{ mg L}^{-1}$ , siendo la diferencia de concentración entre el invierno y la primavera de  $4,20 \text{ mg L}^{-1}$ . Esta variabilidad podría explicarse por la apertura y cierre de compuertas en los esteros, factor que determina la renovación o no del agua, el aporte de nutrientes, la actividad microbiana y/o las floraciones de fitoplancton y la interacción producción-respiración de la comunidad dominante.

En cuanto a los nutrientes del agua, éstos son los que mayor variación presentan durante todo el año (Tabla 2.1.), como consecuencia de la apertura y cierre de las compuertas, la renovación del agua por las lluvias o el aporte de nutrientes por las escorrentías alcanzándose un pico en verano ( $16,53 \text{ } \mu\text{M}$ ) por la acumulación de nitratos.

Los resultados muestran que, en general, las variables fisicoquímicas del agua de mar en los esteros a lo largo del año están influenciadas por el sistema de obtención de sal. De forma que las condiciones ambientales más extremas para *U. rigida* se alcanzan en verano, cuando se cierran las compuertas para favorecer la evaporación del agua.

### 2.4.2. Composición proximal

La composición proximal de *U. rigida* en las diferentes estaciones se muestra en la Figura 2.11. Como se puede observar, el contenido medio en humedad no varía mucho a lo largo del año ( $85,63 \pm 3,54$  de PF). El mayor contenido se observa en invierno seguido del otoño, alcanzando valores similares a los obtenidos en otros estudios (Yaich *et al.*, 2011; Sánchez-García *et al.*, 2016). En verano, sin embargo, se alcanza los valores más bajos de humedad como consecuencia de las altas temperaturas ( $>30$  °C) y, principalmente, las condiciones de salinidad ( $>40$  psu) (Tabla 2.1.) que ocasionan que *U. rigida* se deshidrate parcialmente por ósmosis (Hurd *et al.*, 2014; Rybak, 2018).



**Figura 2.11.** Variabilidad estacional en la composición proximal de *U. rigida*. Contenido de humedad, cenizas, proteínas, lípidos, carbohidratos y fibra, en peso seco (PS) excepto humedad (% peso fresco PF). La línea de puntos indica el valor promedio anual. Las letras indican diferencias significativas entre las distintas estaciones según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

Por lo tanto, se observa como el contenido en humedad está influenciado por la estacionalidad y los parámetros fisicoquímicos del agua de mar donde se desarrolla el alga (Tabla 2.2.), correlación observada anteriormente por otros autores en *Ulva* sp. (Mohy El-Din, 2018). Las cenizas alcanzan valores de  $30,18 \pm 6,31\%$  de PS, superiores a los obtenidos en estudios previos (Ortiz *et al.*, 2006; Yaich *et al.*, 2011). La alta temperatura, la concentración de nutrientes y, en particular, la salinidad del agua de mar en verano favoreció la acumulación de sales y minerales en las macroalgas y, por tanto, su mayor contenido en cenizas (Munda y Kremer, 1977) alcanzándose el valor más alto en dicha estación (Figura 2.11.). Dichos parámetros muestran una alta correlación con el contenido en cenizas, como puede observarse en la Tabla 2.2.

**Tabla 2.2.** Coeficiente de correlación entre los parámetros fisicoquímicos del agua de mar y la composición de *U. rigida*.

Composición de <i>Ulva rigida</i>	Parámetros fisicoquímicos					
	T <sup>a</sup>	Salinidad	pH	OD	Nutrientes <sup>a</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
Humedad	-0,842**	-0,656*	0,313	0,504	-0,816**	-0,849**
Cenizas	0,817**	0,622*	-0,419	0,205	0,854**	0,421
Lípidos	0,768**	0,684*	-0,583*	0,288	0,746**	0,345
Proteínas	0,086	0,520	-0,845**	0,152	-0,242	-0,031
Carbohidratos	-0,788**	-0,975**	0,953**	0,255	-0,493	-0,654*
Fibra	-0,122	-0,121	0,269	-0,844**	-0,200	0,384
Macro-minerales	0,765**	0,560	-0,375	0,292	0,839**	0,340
Micro-minerales	-0,149	0,269	-0,664*	0,407	-0,406	-0,325
Metales pesados	-0,378	0,076	-0,385	-0,313	-0,702*	-0,079
SFAs	-0,492	-0,701*	0,845**	-0,316	-0,303	-0,153
MUFAs	-0,463	-0,283	0,220	-0,636*	-0,599*	0,044
PUFAs	0,499	0,724**	-0,876**	0,291	0,288	0,164
AAE	-0,238	-0,111	0,149	-0,800**	-0,402	0,277
AANE	-0,627*	-0,563	0,524	-0,425	-0,668*	-0,184
AAT	-0,599	-0,481	0,457	-0,514	-0,628*	-0,091
TEAC	-0,044	0,068	0,003	-0,765**	-0,271	0,395
Clorofilas	0,457	0,780**	-0,964**	0,074	0,857**	0,256
SWC	0,815**	0,602*	-0,384	0,200	0,874**	0,427
WHC	-0,757**	-0,658*	0,322	0,878**	-0,621*	-0,970**
OHC	-0,631*	-0,549	0,227	0,927**	-0,512	-0,921**

<sup>a</sup> nutrientes: suma de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) y amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>).

\*\* Diferencias significativas ( $p < 0,01$ ), (2-colas).

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), (2-colas).



El contenido promedio en proteínas de *U. rigida* varía ampliamente entre las diferentes estaciones del año ( $16,71 \pm 7,23\%$  de PS) con diferencias muy significativas (Figura 2.11.). Además, se produce un aumento progresivo de proteínas de invierno a otoño lo que sugiere una respuesta rápida de las macroalgas frente a los cambios ambientales y (Nascimento *et al.*, 2014) influenciado por la estacionalidad tal y como se observa en otros estudios (Zhou *et al.*, 2015). El contenido promedio en lípidos ( $4,44 \pm 1,86\%$  de PS) es muy similar al obtenido en estudios previos (Boulom *et al.*, 2014; Nelson *et al.*, 2002; Sánchez-García *et al.*, 2016). Sin embargo, el contenido en verano (7,07% de PS) (Figura 2.11.) es muy superior al mostrado en dichos estudios. Estos resultados podrían reflejar la capacidad de *U. rigida* para acumular lípidos en condiciones ambientales estresantes, como las que tienen lugar en los esteros durante el verano (Tabla 2.1.). Las altas temperatura ( $>30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y salinidad ( $>40\text{ psu}$ ) pueden causar aumentos significativos en el contenido de lípidos, como ha sido descrito previamente por varios autores (Floreto y Teshima, 1998; Harwood y Guschina, 2009) y de ahí que dicho contenido esté directamente correlacionado con estos parámetros además de con el pH y los nutrientes del agua (Tabla 2.2.).

En cuanto al contenido en carbohidratos, el valor promedio es de  $42,60 \pm 8,70\%$  de PS, más alto a los encontrados por Paiva *et al.* (2017) (26,74% de PS) y similar al determinado por Khairy y El-Shafay (2013) (44,45% de PS) para la misma especie. El valor más bajo se obtiene en verano y el más alto en invierno (Figura 2.11.). Según Rosenberg y Ramus (1982) el periodo activo de síntesis de carbohidratos se caracteriza por periodos de máximo crecimiento de las algas y con mayor actividad fotosintética coincidiendo con una reducción en el contenido de proteínas, y esto ocurre en invierno (Figura 2.11.), cuando la temperatura y la salinidad son más bajas (Tabla 2.1.). Los resultados muestran una marcada variación estacional lo que sugiere una fuerte influencia de las condiciones ambientales en la síntesis y acumulación de carbohidratos por parte de las macroalgas (Suresh Kumar *et al.*, 2015). Dicha influencia se ve además corroborada por los altos coeficientes de correlación de los carbohidratos con la temperatura, la salinidad y el pH (Tabla 2.2.), correlación también observada en un estudio reciente realizado por Mohy El-Din (2018) en *Ulva lactuca*. La fibra, es otro de los componentes que varía significativamente a lo largo del año ( $7,40 \pm 5,86\%$  de PS), obteniéndose el valor más alto en primavera.

Estos valores son más bajos que los obtenidos en *Ulva* en otros estudios (Ortiz *et al.*, 2006; Wong y Cheung, 2000; Yaich *et al.*, 2011), pero más altos que en algunas especies vegetales (soja blanca, tomates, lechuga, brócoli, chile rojo, espinaca, etc.) (Norziah y Ching, 2000). Al contrario de los demás componentes, no parece existir ninguna correlación entre el contenido en fibra y los parámetros fisicoquímicos del agua de los esteros, a excepción del OD de  $r = -0,844$  (Tabla 2.2.).

**Tabla 2.3.** Cambios estacionales en el contenido de macro y micro minerales en *U. rigida* recolectada en estero.

Minerales (mg 100g <sup>-1</sup> PS)	Estaciones				Promedio anual
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	
Macro-minerales					
Na	945,60±32,21 <sup>c</sup>	632,41±20,93 <sup>d</sup>	5225,06±120,12 <sup>a</sup>	1615,09±70,16 <sup>b</sup>	2104,54±2120,34
K	1807,10±60,17 <sup>b</sup>	1330,04±23,21 <sup>d</sup>	2660,21±96,25 <sup>a</sup>	1622,34±11,12 <sup>c</sup>	1854,92±571,65
Ca	1082,13±51,08 <sup>b</sup>	997,08±12,13 <sup>c</sup>	1342,14±30,32 <sup>a</sup>	1093,41±36,08 <sup>b</sup>	1128,69±148,65
Mg	2638,70±129,13 <sup>a</sup>	2722,17±132,13 <sup>a</sup>	2313,09±80,18 <sup>b</sup>	2023,04±75,33 <sup>c</sup>	2424,25±320,45
Na/K	0,52	0,47	1,96	0,99	1,13
Ca/Mg	0,41	0,37	0,58	0,54	0,46
Total	6473,53±272,59	5681,70±188,40	11540,50±326,87	6353,88±192,69	7562,40±3161,09
Micro-minerales					
Fe	127,69±6,06 <sup>c</sup>	110,65±5,35 <sup>d</sup>	160,43±10,21 <sup>b</sup>	268,17±17,07 <sup>a</sup>	166,73±70,71
Zn	0,98±0,07 <sup>d</sup>	1,35±0,06 <sup>c</sup>	1,55±0,11 <sup>b</sup>	3,13±0,19 <sup>a</sup>	1,75±0,95
Cu	0,76±0,05 <sup>c</sup>	1,01±0,02 <sup>a</sup>	0,90±0,04 <sup>b</sup>	1,09±0,06 <sup>a</sup>	0,94±0,14
Co	0,12±0,00 <sup>c</sup>	0,62±0,06 <sup>a</sup>	0,14±0,04 <sup>c</sup>	0,20±0,02 <sup>b</sup>	0,27±0,23
Cr	0,42±0,03 <sup>a</sup>	0,35±0,03 <sup>b</sup>	0,37±0,09 <sup>b</sup>	0,34±0,08 <sup>b</sup>	0,37±0,03
Total	129,97±6,21	113,98±5,52	163,39±10,49	272,93±17,42	170,06±72,06
Metales pesados					
As	0,263±0,025 <sup>c</sup>	0,397±0,015 <sup>a</sup>	0,308±0,003 <sup>b</sup>	0,343±0,030 <sup>b</sup>	0,328±0,056
Cd	0,003±0,001 <sup>b</sup>	0,010±0,001 <sup>a</sup>	0,011±0,002 <sup>a</sup>	0,013±0,001 <sup>a</sup>	0,009±0,004
Hg	0,005±0,001 <sup>b</sup>	0,007±0,001 <sup>a</sup>	0,004±0,000 <sup>b</sup>	0,009±0,002 <sup>a</sup>	0,006±0,002
Ni	0,357±0,005 <sup>b</sup>	0,794±0,018 <sup>a</sup>	0,345±0,011 <sup>b</sup>	0,393±0,040 <sup>b</sup>	0,472±0,215
Pb	0,190±0,020 <sup>c</sup>	0,483±0,031 <sup>a</sup>	0,231±0,025 <sup>b</sup>	0,173±0,031 <sup>c</sup>	0,269±0,144
Sn	0,010±0,001 <sup>b</sup>	0,022±0,001 <sup>a</sup>	0,013±0,002 <sup>b</sup>	0,008±0,003 <sup>b</sup>	0,013±0,006
Total	0,828±0,053	1,713±0,067	0,912±0,043	0,939±0,107	1,097±0,427

<sup>a, b, c, d</sup> Los superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias estacionales significativas a lo largo del año. Los valores medios se calcularon utilizando triplicados (n=3) con SD, ( $p < 0,05$ , ANOVA, test de Tukey). Macro-minerales: (sodio (Na); potasio (K); magnesio (Mg); calcio (Ca)), micro-minerales: (hierro (Fe); zinc (Zn); cobre (Cu); arsénico (As); cadmio (Cd); cobalto (Co); cromo (Cr); mercurio (Hg); níquel (Ni); plomo (Pb); estaño (Sn)). También se indica el valor promedio anual de todos los minerales.

El contenido mineral de *Ulva rigida* se muestra en la Tabla 2.3. Como se puede observar, el contenido macro-mineral promedio anual es de 7562,40±3161,09 mg 100g<sup>-1</sup> de PS, lo que muestra una gran variabilidad y, por lo tanto, diferencias estacionales.

Los contenidos medios de Ca, K y Mg en *Ulva rigida* presentan diferencias significativas en la mayoría de las estaciones, siendo Na el macro-mineral más variable a lo largo del año, con valores desde 632,41 hasta 5225,06 mg 100g<sup>-1</sup> de PS, en primavera y verano, respectivamente. Este resultado puede deberse a una alta disponibilidad de estos macro-minerales en los esteros, ya que el contenido mineral de las algas está relacionado con su capacidad de retener sustancias marinas inorgánicas, debido a las características de los polisacáridos de su superficie celular (Bocanegra *et al.*, 2009; Chan y Matanjun, 2017). El contenido más bajo de macro-minerales se observa en primavera, lo que sugiere la dilución de las concentraciones debido a las aguas de lluvia o fluviales, así como aguas de escorrentía terrestres. En contraste, el cierre de las compuertas en los esteros durante el verano favorece la evaporación del agua, lo que conlleva a un aumento de Na, K y Ca por efecto de concentración.

Por lo tanto, las concentraciones de macro-minerales más altas se alcanzaron durante el verano. De acuerdo con Circuncisão *et al.* (2018), las variables físicas y químicas (exposición al oleaje, temperatura del agua de mar, luz, salinidad, pH, estado de oxidación de minerales, entre otros) pueden influir en las tasas de absorción de minerales. Por un lado, estas variables dependen de la estacionalidad y afectan los mecanismos de absorción de minerales y/o nutrientes de las macroalgas, lo que influye en su composición química (Hurd *et al.*, 2014). Resultados que se corroboran con el alto coeficiente de correlación de los macro-minerales con la temperatura y los nutrientes del agua de mar (Tabla 2.2.). Por otro lado, excepto en verano, *U. rigida* muestra relaciones Na/K inferiores a 1, oscilando entre 0,47 (primavera) y 0,99 (otoño). Según Valentina *et al.*, (2015), las algas acumulan preferentemente K sobre Na por la diferencia en la reactividad geoquímica entre los dos elementos. Por lo tanto, *U. rigida* recolectada en los esteros de la bahía de Cádiz, presenta más K disponible y/o mayor capacidad para asimilarlo. Además, el contenido en Mg presenta valores notablemente altos durante todo el año y su acumulación es mayor a la obtenida en Ca, presentando una relación Ca/Mg inferior a 1 en todas las estaciones (Tabla 2.3.). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda ratios Na/K inferiores o cercanos a 1, e igualmente algunos autores señalan que la relación Ca/Mg óptima es de 2:1 o 1:1 (DeLuccia *et al.*, 2019). Por lo tanto, el consumo de algas, por su riqueza en K, contribuye a una dieta saludable (Blaustein *et al.*, 2011) y de la misma forma contribuiría el Mg.

En cuanto a los micro-minerales de *U. rigida*, su contenido medio es de  $170,06 \pm 72,06$  mg  $100\text{g}^{-1}$  de PS alcanzándose el máximo valor en otoño. El Fe es el principal contribuyente a la composición micro-mineral, seguido de Zn y Cu que alcanzan su punto máximo en otoño (Tabla 2.3.). El contenido en Co y el Cr está por debajo de 1 y 0,5 mg  $100\text{g}^{-1}$  PS mostrando valores desde 0,12 a 0,62 mg  $100\text{g}^{-1}$  de PS, en invierno y primavera respectivamente.

Los metales pesados (As, Cd, Hg, Ni, Pb, Sn) presentan un valor promedio anual de tan solo un 1,1 mg  $100\text{g}^{-1}$  de PS (Tabla 2.3.). Se incrementan principalmente en primavera a través del aumento de Ar, Ni, Pb y Sn, aunque sus niveles se mantienen por debajo de 2 mg  $100\text{g}^{-1}$  PS. Muchas algas tienen una alta capacidad de acumulación de metales tóxicos y esto ha sido motivo de preocupación en los últimos años (Besada *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2015; Rubio *et al.*, 2017) dado el creciente interés en el consumo de algas. Sin embargo, la capacidad de acumulación de algas depende de factores ambientales (salinidad, temperatura y pH) (Marinho-Soriano *et al.*, 2006; Struck *et al.*, 1997), la biodisponibilidad de los metales en el agua circundante y la capacidad de absorción de las algas (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2001). Mutia *et al.* (2018) determinaron que especies laminares similares a *U. rigida* tenían una bioacumulación de metales pesados más baja que otras especies, y en el caso de este estudio se muestran niveles indetectables en el área de muestreo. Por lo tanto, los factores ambientales de los esteros, la biodisponibilidad de los metales en esta área y la baja capacidad de bioacumulación de *U. rigida* conllevan a un bajo contenido de metales tóxicos incluso en las condiciones más desfavorables que se presentan en verano.

Por otra parte, de acuerdo con la legislación vigente sobre metales pesados, las limitaciones dependen de los países y el tipo de metales tóxicos. Así, el Reglamento de la Comisión Europea (CE) N° 420/2011 (UE, 2011) establece niveles máximos para Cd y Pb en algas marinas en 0,10 y 0,05 mg  $\text{Kg}^{-1}$  PS, respectivamente. Tanto los niveles de Cd, como los de Hg, en el área de estudio son  $<0,013$  mg  $100\text{g}^{-1}$  PS (Tabla 2.3.), luego están muy por debajo de lo establecido por la CE para algas y productos de algas marinas según la legislación en Francia ( 0,5 mg  $\text{kg}^{-1}$  de PS), Australia/Nueva Zelanda (0,2 mg  $\text{kg}^{-1}$  de PS) y China (1,0 g  $\text{kg}^{-1}$  de PS) (Zhao *et al.*, 2012). Los contenidos de Pb exceden ligeramente a los encontrados para *U. rigida* en un estudio previo (0,10-0,11 mg  $100\text{g}^{-1}$  PS) (Besada *et al.*, 2009) en algunas épocas del año, pero se encuentran por debajo del

límite legal de 0,50 mg 100 g<sup>-1</sup> PS establecido en Francia. Teniendo en cuenta otros estudios y la legislación francesa, los contenidos de As están muy por debajo de los valores de referencia para *U. rigida* obtenidos por Besada *et al.* (2009) (0,64-0,71 mg 100g<sup>-1</sup> de PS), presentando el valor más alto en primavera con 0,397 mg 100g<sup>-1</sup> de PS. Los niveles de Ni están entre 0,345 y 0,794 mg 100g<sup>-1</sup> de PS, en verano y primavera respectivamente. Por lo tanto, al comparar los niveles de metales tóxicos de nuestros resultados con la legislación o los valores descritos por otros autores, todas las muestras de algas estudiadas podrían considerarse seguras para los consumidores.

En base a estos resultados, el consumo de *U. rigida* de la Bahía de Cádiz, particularmente los de los esteros de la salina “La Esperanza”, pueden contribuir a una mayor ingesta de Na, K, Ca, Mg y otros minerales traza (Fe, Cu y Zn), ayudando a equilibrar las relaciones dietéticas de Na/K y Ca/Mg. Además, el contenido en metales tóxicos en las muestras de macroalgas procedentes de estos esteros es baja, muy por debajo de los límites permitidos por la legislación. Por lo tanto, estas algas se pueden usar para consumo directo o como ingrediente alimentario para ayudar a cumplir con la ingesta diaria recomendada de algunos minerales y oligoelementos.

#### 2.4.3. Contenido en ácidos grasos

Las variaciones estacionales y el contenido promedio anual en el contenido de ácidos grasos de *U. rigida* se muestran en la Tabla 2.4. Como se puede observar, en *U. rigida* predominan los SFAs, con un promedio anual de 75,64±15,20%, aunque con valores mínimo y máximo de 61,85 y 89,78%, en verano e invierno, respectivamente. Las estaciones correspondientes a la época de cierre (verano y otoño) y apertura (invierno y primavera) en el estero marcan la principal diferencia y parece estar relacionado con la salinidad ( $r = -0,701$ ) y el pH ( $r = 0,845$ ) (Tabla 2.2.) del agua. Comparado con otros estudios en *Ulva* sp., el porcentaje de SFAs presenta un valor muy elevado, sobre todo en invierno (53,50%, Santos *et al.*, 2019 o 35,50%, Khairy y El-Shafay, 2013), aunque similar al encontrado por Mohy El-Din (2018) en *Ulva lactuca* (89,10% SFAs). Tal y como se ha observado en estudios previos para *Ulva* sp. (Khairy y El-Shafay, 2013; Kumari *et al.*, 2010; Mohy El-Din, 2018; Santos *et al.*, 2019), el SFA mayoritario es el ácido palmítico

(C16:0), que además de registrar el valor más alto durante todo el año es el más influenciado por la estacionalidad, variando aproximadamente un 20%.

**Tabla 2.4.** Variaciones estacionales en la composición de ácidos grasos (% ésteres metílicos totales) de los lípidos de *U. rigida*.

Ácidos grasos	Estaciones				Promedio anual
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	
C 6:0	0,03±0,01 <sup>c</sup>	0,13±0,01 <sup>b</sup>	0,05±0,01 <sup>c</sup>	0,62±0,02 <sup>a</sup>	0,21±0,28
C 10:0	0,51±0,01 <sup>a</sup>	0,53±0,01 <sup>a</sup>	0,08±0,01 <sup>c</sup>	0,25±0,02 <sup>b</sup>	0,34±0,22
C 14:0	2,00±0,08 <sup>a</sup>	1,95±0,01 <sup>a</sup>	1,49±0,02 <sup>c</sup>	1,61±0,01 <sup>b</sup>	1,76±0,25
C 15:0	nd	nd	0,36±0,03	nd	0,09±0,18
C 16:0	77,21±2,63 <sup>a</sup>	74,25±4,57 <sup>a</sup>	58,27±1,16 <sup>b</sup>	53,97±0,62 <sup>b</sup>	65,93±11,52
C 18:0	5,53±0,27 <sup>b</sup>	8,27±0,16 <sup>a</sup>	1,60±0,17 <sup>d</sup>	3,62±0,22 <sup>c</sup>	4,76±2,84
C 20:0	0,82±0,03	nd	nd	nd	0,21±0,41
C 22:0	3,68±0,03 <sup>a</sup>	2,64±0,11 <sup>c</sup>	nd	3,10±0,08 <sup>b</sup>	2,36±1,63
SFAs	89,78±3,06 <sup>a</sup>	87,77±4,87 <sup>a</sup>	61,85±1,40 <sup>b</sup>	63,17±0,97 <sup>b</sup>	75,64±15,20
C 16:1 n-7	2,23±0,03 <sup>c</sup>	3,64±0,04 <sup>b</sup>	1,33±0,03 <sup>d</sup>	4,86±0,06 <sup>a</sup>	3,02±1,55
C 17:1	nd	nd	0,57±0,06 <sup>a</sup>	0,47±0,05 <sup>a</sup>	0,26±0,30
C 18:1 n-9	3,87±0,12 <sup>b</sup>	6,05±0,09 <sup>a</sup>	0,86±0,07 <sup>d</sup>	2,01±0,11 <sup>c</sup>	3,20±2,27
MUFAs	6,10±0,15 <sup>c</sup>	9,69±0,13 <sup>a</sup>	2,76±0,12 <sup>d</sup>	7,34±0,22 <sup>b</sup>	6,47±2,89
C 18:2 n-6	0,80±0,02 <sup>d</sup>	1,69±0,04 <sup>c</sup>	8,67±0,17 <sup>a</sup>	7,46±0,37 <sup>b</sup>	4,66±3,98
C 18:3 n-3	nd	1,59±0,07 <sup>c</sup>	18,04±0,71 <sup>b</sup>	21,49±1,20 <sup>a</sup>	10,28±11,06
C 20:2 n-6	0,066±0,006 <sup>a</sup>	0,013±0,006 <sup>b</sup>	0,013±0,005 <sup>b</sup>	0,017±0,005 <sup>b</sup>	0,03±0,03
C 20:4 n-6	0,003±0,006 <sup>b</sup>	0,013±0,001 <sup>b</sup>	0,014±0,003 <sup>b</sup>	0,040±0,006 <sup>c</sup>	0,02±0,02
C 20:5 n-3	nd	0,020±0,017 <sup>b</sup>	0,910±0,021 <sup>a</sup>	0,050±0,040 <sup>b</sup>	0,25±0,44
C 22:2 n-6	0,017±0,006 <sup>c</sup>	0,120±0,036 <sup>b</sup>	2,320±0,030 <sup>a</sup>	0,033±0,011 <sup>c</sup>	0,62±1,13
PUFAs	0,886±0,038 <sup>c</sup>	3,446±0,170 <sup>b</sup>	29,967±0,939 <sup>a</sup>	29,090±1,632 <sup>a</sup>	15,85±15,84

a, b, c, d Los superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias estacionales significativas entre los minerales. Los valores medios se calcularon utilizando triplicados (n=3) con SD ( $p < 0,05$ , ANOVA, test de Tukey). Ácidos grasos saturados (SFAs), monoinsaturados (MUFAs) y poliinsaturados (PUFAs).

El contenido en MUFAs varía del 2,76% en verano al 9,69% en primavera con un valor promedio de 6,47±2,89%. Dicha diferencia se debe principalmente a la variación en el contenido del ácido oleico (C18:1) a lo largo del año, siendo el MUFA que presenta el valor más alto en todas las estaciones, excepto en verano. En estudios previos realizados con *Ulva* sp. (Khairy y El-Shafay, 2013; Santos *et al.*, 2019; Trigui *et al.*, 2013), el C18:1 presenta el contenido más alto de entre los MUFAs, por lo que la variabilidad observada en el presente estudio parece indicar que las condiciones extremas del medio, sobre todo durante el verano, producen alteraciones singulares en la composición del alga y parece

tener cierta relación con la cantidad de nutrientes ( $r = -0,636$ ) y el OD del agua ( $r = -0,599$ ).

Por último, el contenido promedio de PUFA es de  $15,85 \pm 15,84\%$ , con un valor de desviación estándar muy alto que indica la alta variabilidad existente entre las estaciones determinada principalmente por la apertura y cierre de las compuertas, llegando a niveles del 29,97% en verano con respecto al 0,89% del invierno. Dado que los resultados se expresan en porcentajes, existe una clara relación entre los contenidos de SFAs y PUFA de manera que el aumento de estos últimos es consecuencia de la disminución de los primeros como consecuencia de la salinidad y pH (Tabla 2.2.). De ahí que el contenido en PUFA esté directamente correlacionado con la salinidad ( $r = 0,724$ ) e inversamente con el pH ( $r = -0,876$ ). Al igual que en otros estudios en *Ulva* sp., (Khairy y El-Shafay, 2013; Santos *et al.*, 2019; Trigui *et al.*, 2013), los PUFA más abundantes son el ácido linolénico (C18:3), seguido del ácido linoleico (C18:2), los cuales presentan los valores más altos en verano y otoño.

#### 2.4.4. Contenido en aminoácidos

En la Tabla 2.5. se recoge el contenido de aminoácidos de *U. rigida* en las diferentes estaciones, así como los valores promedio. En cuanto a los aminoácidos esenciales totales (AAET), el promedio anual es de  $13,01 \pm 5,73$ , lo que supone un 17,7% del total de aminoácidos. Aunque la proporción de AAET se mantiene a lo largo del año con respecto a los AAT (AAET/AAT), los valores más bajos se dan en verano, coincidiendo también con los niveles más bajos en aminoácidos totales. Los niveles más altos se dan en primavera, coincidiendo con los niveles de OD (Tabla 2.1.) más bajos, existiendo una correlación inversa entre ambos parámetros ( $r = -0,800$ ) (Tabla 2.2.). Los AAET más representativos son valina, histidina, y treonina, aunque su contenido presenta diferencias significativas entre las diferentes estaciones del año ( $p < 0,05$ ). En primavera, cuando *U. rigida* se encuentra en las mejores condiciones para su crecimiento, se alcanzan los niveles más altos de estos aminoácidos y, por tanto, los del total de aminoácidos esenciales. En verano, sin embargo, cuando las algas se encuentran una situación de máximo estrés, los niveles de aminoácidos totales se ven afectados y con ellos, el de AAE. Este comportamiento podría ser similar al de otras plantas en situación de estrés ecológico,

por ejemplo, como respuesta a unas condiciones de estrés salino, algunos aminoácidos actúan como osmolitos compatibles para responder al estrés ambiental (Ashraf y Foolad, 2007).

**Tabla 2.5.** Variaciones estacionales en la composición de aminoácidos libres (mg g<sup>-1</sup> PS) en *U. rigida*.

Aminoácidos	Estaciones				Promedio Anual
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	
AAEs					
Histidina <sup>1</sup>	0,72±0,05 <sup>d</sup>	3,21±0,12 <sup>b</sup>	1,64±0,07 <sup>c</sup>	6,21±0,11 <sup>a</sup>	2,95±2,41
Treonina <sup>2</sup>	2,61±0,11 <sup>b</sup>	6,14±0,18 <sup>a</sup>	1,11±0,04 <sup>c</sup>	0,81±0,05 <sup>d</sup>	2,67±2,45
Tirosina	1,62±0,05 <sup>a</sup>	1,61±0,11 <sup>a</sup>	0,56±0,04 <sup>b</sup>	0,01±0,00 <sup>c</sup>	0,95±0,80
Valina <sup>3</sup>	4,02±0,29 <sup>b</sup>	4,81±0,20 <sup>a</sup>	2,82±0,10 <sup>c</sup>	2,95±0,15 <sup>c</sup>	3,90±1,38
Fenilalanina	0,75±0,06 <sup>b</sup>	0,73±0,07 <sup>b</sup>	0,20±0,04 <sup>c</sup>	1,20±0,11 <sup>a</sup>	0,72±0,41
Isoleucina	0,90±0,01 <sup>b</sup>	1,49±0,19 <sup>a</sup>	0,40±0,02 <sup>c</sup>	1,10±0,11 <sup>b</sup>	0,97±0,45
Leucina	0,64±0,03 <sup>b</sup>	1,21±0,04 <sup>a</sup>	0,40±0,03 <sup>c</sup>	0,22±0,03 <sup>d</sup>	0,62±0,43
Triptófano	nd	0,60±0,03 <sup>a</sup>	nd	0,34±0,09 <sup>b</sup>	0,24±0,29
AAET	11,26±0,60 <sup>b</sup>	20,80±0,94 <sup>a</sup>	7,13±0,34 <sup>c</sup>	12,84±0,65 <sup>b</sup>	13,01±5,73
AANEs					
Ácido aspártico	1,71±0,02 <sup>b</sup>	1,07±0,06 <sup>c</sup>	0,51±0,08 <sup>d</sup>	6,32±0,19 <sup>a</sup>	2,40±2,66
Serina	1,23±0,04 <sup>b</sup>	1,41±0,03 <sup>a</sup>	0,85±0,10 <sup>c</sup>	1,40±0,07 <sup>a</sup>	1,22±0,26
Ácido glutámico	7,10±0,20 <sup>b</sup>	4,23±0,18 <sup>c</sup>	2,53±0,16 <sup>d</sup>	8,22±0,20 <sup>a</sup>	5,52±2,61
Glicina	nd	0,42±0,03 <sup>b</sup>	nd	8,50±0,31 <sup>a</sup>	2,23±4,18
Alanina	59,88±5,19 <sup>b</sup>	70,85±7,59 <sup>a</sup>	31,43±3,04 <sup>c</sup>	35,41±3,94 <sup>c</sup>	49,32±19,13
AANET	69,92±5,45 <sup>ab</sup>	77,98±7,89 <sup>a</sup>	35,32±3,38 <sup>c</sup>	59,54±4,71 <sup>b</sup>	60,69±18,52
AAT	81,18±6,05 <sup>b</sup>	98,78±8,83 <sup>a</sup>	42,45±3,72 <sup>c</sup>	72,38±5,36 <sup>b</sup>	73,70±23,55
AAET/AAT	0,14	0,21	0,17	0,18	0,17±0,03
AAET/AANET	0,16	0,27	0,20	0,22	0,21±0,04

<sup>1</sup> Histidina+Glutamina.

<sup>2</sup> Treonina+Arginina.

<sup>3</sup> Valina+Metionina.

a, b, c, d Los superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas estacionales en los distintos aminoácidos determinados en *U. rigida* de estero. Los datos muestran valores medios (n = 3) con SD ( $p < 0,05$ , ANOVA, test de Tukey). Aminoácidos libres totales (AAT), aminoácidos esenciales (AAET) y aminoácidos no esenciales (AANET).

Por tanto, el consumo de *Ulva* sp. de estero con el objetivo de conseguir un mayor aporte de aminoácidos esenciales sería en primavera, seguido de la estación de otoño. En cuanto al contenido de aminoácidos no esenciales (AANET) (Tabla 2.5.), el promedio anual muestra un valor de 60,69±18,52, siendo de nuevo la estación de primavera la que presenta el mayor contenido y el verano la estación con el valor más bajo. En este caso el aminoácido más representativo es la alanina (81,2% de los AANET) mostrando una



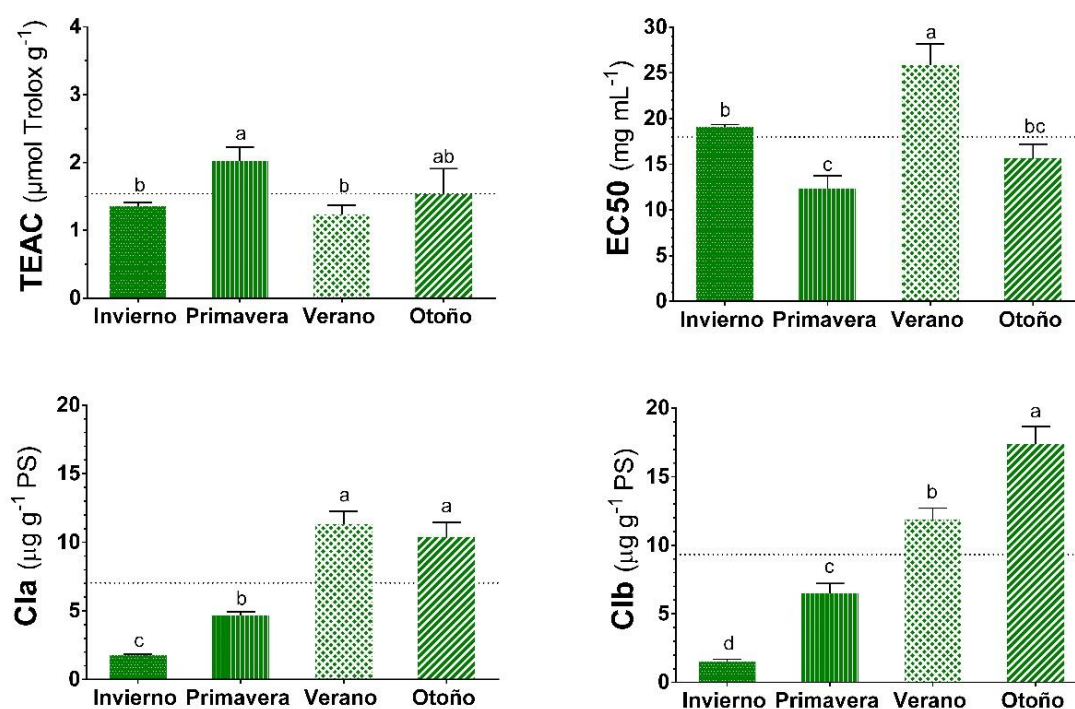
variación superior a 39 mg g<sup>-1</sup> PS, entre primavera y verano. Los ácidos aspártico y glutámico, aunque en menor proporción con respecto al total de aminoácidos no esenciales (3,3 y 7,5% respectivamente) muestran su contenido más alto en la estación de otoño e invierno, el mismo comportamiento que se observó en el estudio de Mohy El-Din (2018).

Dicho comportamiento podría indicar que la acumulación de estos ácidos es mayor cuando las temperaturas son más bajas, resultado que se puede corroborar por la correlación existente entre la temperatura y los AANET ( $r = -0,627$ ) (Tabla 2.2.). Sin embargo, los niveles de estos aminoácidos están por debajo de los encontrados en otros estudios que señalan que las algas son una fuente rica de ácido aspártico y ácido glutámico (Harnedy y FitzGerald, 2011), y que se encuentran en niveles del 15 y 11% del total de aminoácidos, respectivamente en *Ulva rigida* (Fleurence *et al.*, 1995). Aunque tanto el ácido aspártico como el ácido glutámico están considerados como aminoácidos no esenciales, ambos son de gran importancia desde el punto de vista sensorial ya que están relacionados con el sabor umami, y presentan un papel importante en el uso de las algas como potenciadores del sabor (Fernández-Segovia *et al.*, 2018).

#### 2.4.5. Capacidad antioxidante y contenido en clorofilas

En la Figura 2.12. se muestra la capacidad antioxidante medida con la prueba de DPPH expresada en Trolox y el valor EC50, valor correspondiente a la cantidad de extracto o fracción requerida para eliminar el 50% de los radicales DPPH presentes en la mezcla de reacción. En ambos casos las diferencias entre estaciones son significativas ( $p < 0,05$ ) siendo la estación de primavera la que presenta la mayor capacidad antioxidante y el valor más bajo de EC50. En verano, sin embargo, la capacidad antioxidante es más baja y el EC50 llega a alcanzar los 25,88 mg mL<sup>-1</sup>. Estos resultados indican que la capacidad antioxidante de *U. rigida* está muy influenciada por las condiciones ambientales extremas que se producen en verano por el cierre de las compuertas. Además, en el resto de estaciones tampoco se observa una capacidad antioxidante muy elevada, posiblemente debidos al uso de parte de los compuestos antioxidantes para la aclimatación (Trigui *et al.*, 2013) de *U. rigida* entre estacionalidades. La aclimatación de las algas a bajas temperaturas (<15 °C), generalmente indica un aumento considerable en las actividades

enzimáticas antioxidantes y la capacidad fotosintética (Duggeon *et al.*, 1995; Triguí *et al.*, 2013). El hecho de que en los esteros la temperatura media anual ronde los 20 °C podría explicar la baja actividad antioxidante obtenida en *U. rigida* comparada con la obtenida para la misma especie en otros estudios (Paiva *et al.*, 2017; Triguí *et al.*, 2013) y que exista una correlación inversa entre esta y el OD, con un valor de  $r = -0,765$  (Tabla 2.2.).



**Figura 2.12.** Variaciones en la capacidad antioxidantes y contenido de clorofila en *U. rigida* a lo largo del año. Capacidad antioxidante expresada como  $\mu\text{mol}$  de la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) por gramo de muestra. EC50, concentración efectiva media. La línea de puntos indica el valor promedio anual. Las letras indican diferencias significativas entre las distintas estaciones según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

En cuanto al color, las algas verdes como *U. rigida* deben su coloración al pigmento verde clorofila, requerido para la fotosíntesis y, por tanto, estas algas requieren de buenos niveles de luz para sobrevivir (Kilinç *et al.*, 2008). El valor promedio anual de ambas clorofilas (a y b) es de  $7,04 \pm 4,56$  y  $9,32 \pm 6,84 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente aumentando éstos de invierno a otoño (Figura 2.12.). Se ha demostrado que los pigmentos como la clorofila están correlacionadas positivamente con la cantidad de nutrientes en el agua (fundamentalmente nitrógeno) de manera que a mayor contenido de los mismos mayor síntesis de estos pigmentos (Liotenberg *et al.*, 1996; Zubia *et al.*, 2014). La disponibilidad

de horas de luz, que van aumentando de manera progresiva a lo largo del año, también afecta a la concentración de pigmentos en las algas debido a procesos de fotoaclimatación (Falkowski y LaRoche, 1991). Además, según numerosos autores (Israel *et al.*, 1999; Kumar *et al.*, 2010), en medios hipersalinos (45 psu) las algas presentan concentraciones más altas de pigmentos debido a la situación de estrés en la que se encuentran bajo estas condiciones.

En este estudio, la mayor acumulación de clorofilas se observa en verano, coincidiendo con más horas de insolación y los valores más altos de nutrientes y salinidad del agua (Tabla 2.1.). En la Tabla 2.2. se puede observar cómo la concentración de pigmentos está relacionada directamente con la salinidad ( $r = 0,780$ ) y nutrientes ( $r = 0,857$ ). Por tanto, de nuevo el cierre de compuertas en los esteros condiciona la composición del alga.

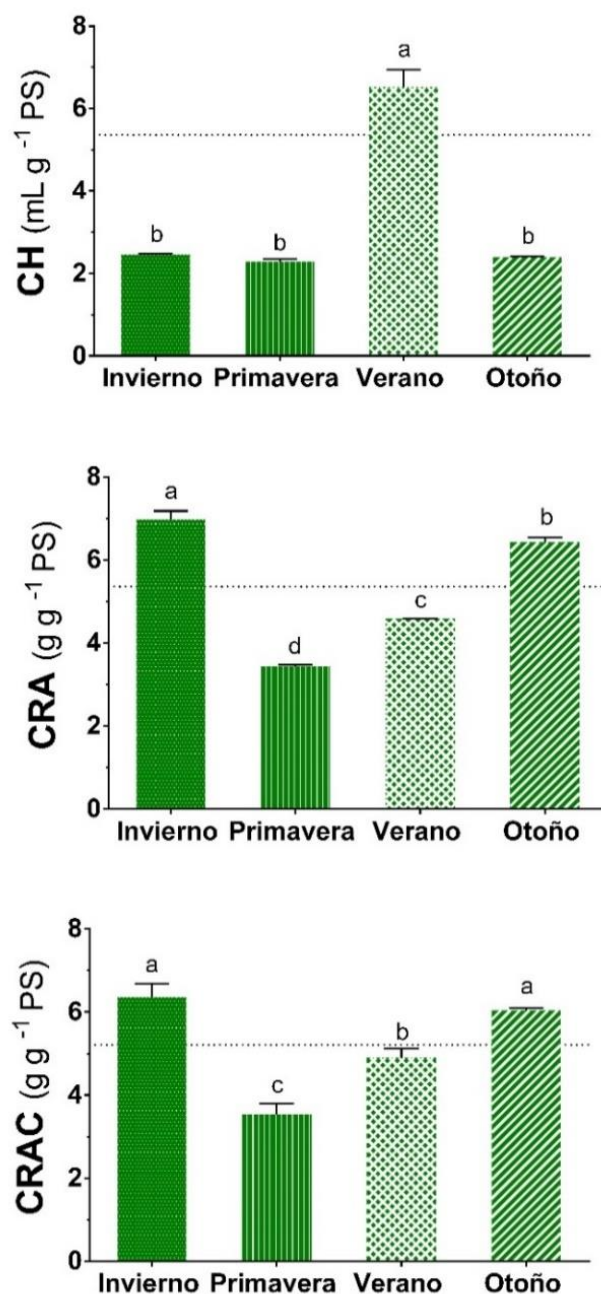
#### 2.4.6. *Propiedades tecnológicas*

Las propiedades tecnológicas implican un valor añadido de las algas marinas en la industria alimentaria porque pueden mejorar la textura y la jugosidad de la carne, mariscos, productos horneados y otros productos (Fernández-Segovia *et al.*, 2018; Roohinejad *et al.*, 2017). El conocimiento de estas propiedades también puede favorecer el uso de algas como materia prima o ingrediente en el desarrollo de alimentos formulados, nuevos productos y preparaciones culinarias. Los valores de capacidad de hinchamiento (CH), capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de aceite (CRAC) de *U. rigida* se presentan en la Figura 2.13.

La capacidad de hinchamiento presenta un valor promedio de  $3,42 \pm 2,07 \text{ mL g}^{-1} \text{ PS}$ , con una desviación bastante alta, debido al aumento significativo de dicha capacidad en verano, con respecto al resto de estaciones del año. De acuerdo con Gao *et al.* (2018) las altas temperaturas conducen a valores de CH más altos, mientras que los altos nitratos los reducen, sin embargo, lo que se observa en los esteros es que existe una relación directa entre la temperatura y cantidad de nutrientes del agua con la capacidad de hinchamiento del alga ( $r = 0,815$  y  $r = 0,874$ , respectivamente).

Por otra parte, las propiedades de hidratación y retención de aceite presentan un patrón similar durante todo el año, con valores promedio de  $5,36 \pm 1,64$  y  $5,21 \pm 1,28 \text{ g g}^{-1} \text{ PS}$ , respectivamente, alcanzándose los valores más bajos en primavera.

Al igual que ocurría con CH, parece existir una relación entre estas propiedades y las condiciones ambientales de manera parámetros tales como la temperatura, fosfatos y oxígeno disuelto del agua muestran una alta correlación con dichas capacidades como se puede observar en la Tabla 2.2.



**Figura 2.13.** Variabilidad estacional de las propiedades tecnológicas de *U. rigida* a lo largo del año. Capacidad de hinchamiento (CH), capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de aceite (CRAC). La línea de puntos indica el valor promedio de todo el año. Las letras indican diferencias significativas entre las distintas estaciones según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

Según Gao *et al.* (2018), la combinación de altas temperaturas, nitratos y CO<sub>2</sub> aumenta el CH, CRA y CRAC en *U. rigida*, pero en el presente estudio esto sólo ocurre para CH, mientras que para CRA y CRAC se observa el efecto contrario y parece clara la influencia de otros factores tales como la salinidad y los fosfatos. Contrastando los resultados con los obtenidos por otros autores para la misma u otra especie (Benjama y Masniyom, 2011; Gao *et al.*, 2018; Sakthivel y Pandima Devi, 2015; Wong y Cheung, 2000), se puede observar que *U. rigida* recolectada en estero presenta propiedades de hidratación más bajas pero una capacidad mayor de retención de aceite (por encima de 3,5 g g<sup>-1</sup> PS). Las condiciones ambientales influyen en las propiedades tecnológicas y, por tanto, condicionan el valor de esta macroalga como ingrediente alimentario en el desarrollo de nuevos productos o elaboraciones. Los valores de CH y CRA indican que *U. rigida* puede usarse para mejorar las propiedades físicas y estructurales en los productos alimenticios (Elleuch *et al.*, 2011; Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1999) y los altos valores de CRAC pueden permitir la estabilización de emulsiones y productos alimentarios ricos en grasas (Chan y Matanjun, 2017).

#### 2.4.7. Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (ACP) realizado con los parámetros fisicoquímicos del agua de mar y las características fisicoquímicas, funcionales y de *U. rigida* extrae tres componentes principales (CP) que explican el 97,58% del total de la varianza (Tabla 2.6.). La primera componente (CP1), con un 50,04% de la varianza explicada agrupa a las variables que presentan mayor contribución a las características fisicoquímicas y funcionales de *U. rigida* como cenizas, lípidos, macro-minerales y CH con carga negativa y fibra, metales pesados, MUFAs, aminoácidos totales (esenciales y no esenciales) y capacidad antioxidante (TEAC) con carga positiva.

Por otra parte, la componente CP2, explica el 27,65% del total de la varianza y agrupa principalmente a las variables fisicoquímicas del agua de mar, a excepción del pH, humedad, CRA y CRAC, todos con carga positiva a excepción del OD y las propiedades tecnológicas. CP2 es, por tanto, una componente que representa las condiciones ambientales del alga y sus propiedades tecnológicas.

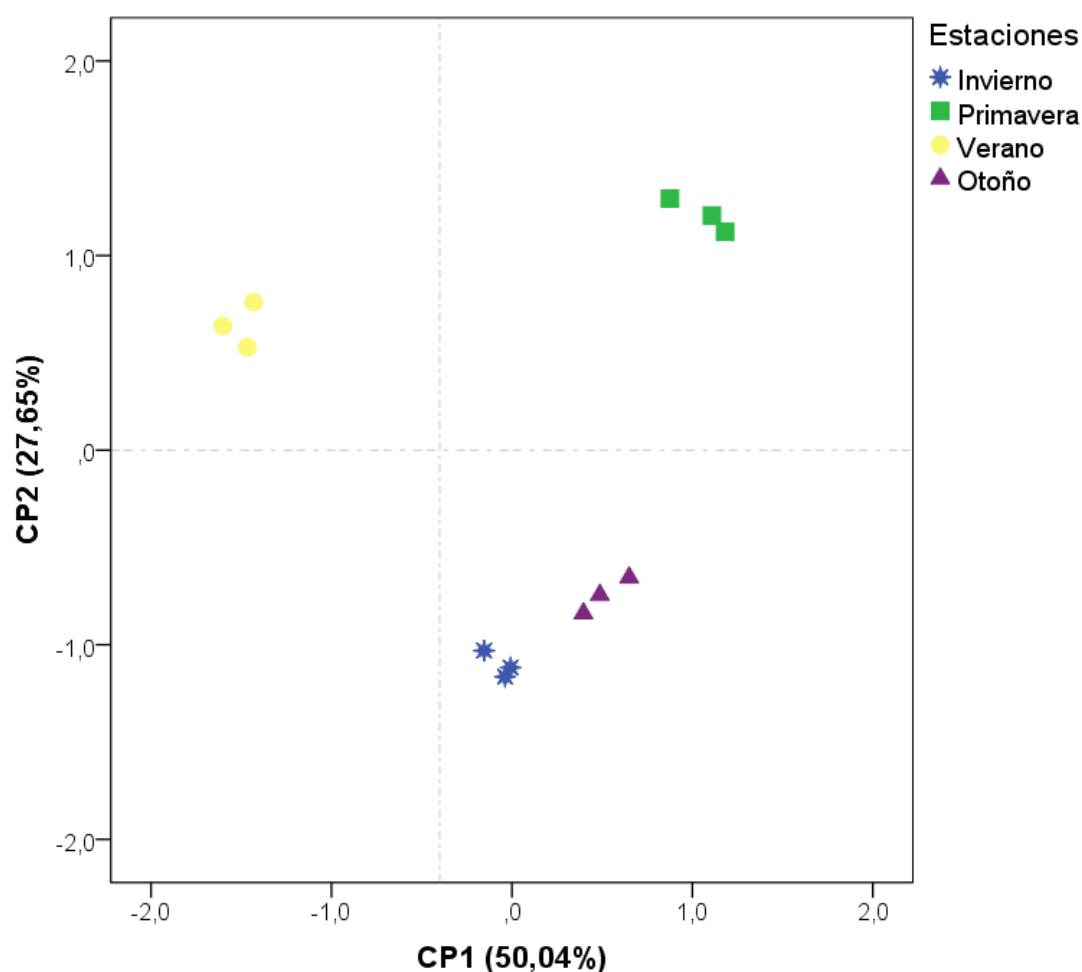
Los carbohidratos, SFAs y el pH del agua se agrupan en la tercera componente (CP3) y contribuyen con carga negativa mientras que las proteínas, micro-minerales, PUFAs y clorofilas lo hacen con carga positiva. El diagrama de dispersión de las muestras en el plano definido por las componentes que explican el mayor porcentaje de la varianza (77,69%) , CP1 y CP2, se muestra en la Figura 2.14.

**Tabla 2.6.** Puntuaciones de las componentes obtenidas en el ACP calculadas con las variables fisicoquímicas del agua de mar y la composición proximal, mineral, funcional y tecnológica de *U. rigida* recolectada en los esteros de la bahía de Cádiz a lo largo del año.

	CP1	CP2	CP3
Temperatura	-0,534	0,803	0,252
Salinidad	-0,285	0,691	0,663
pH	0,146	-0,345	-0,926
OD	-0,535	-0,840	0,034
Nutrientes ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+$ )	-0,717	0,675	-0,096
$\text{PO}_4^{3-}$	-0,059	0,986	0,143
Humedad	0,373	-0,846	0,030
Cenizas	-0,903	0,349	0,181
Lípidos	-0,879	0,238	0,403
Proteínas	0,044	-0,170	0,982
Carbohidratos	0,301	-0,534	-0,786
Fibra	0,787	0,490	-0,349
Macro-minerales	-0,946	0,266	0,156
Micro-minerales	0,015	-0,456	0,889
Metales pesados	0,799	-0,118	0,584
SFAs	0,538	0,001	-0,830
MUFAs	0,980	0,121	-0,129
PUFAs	-0,505	0,011	0,861
AAE	0,920	0,358	-0,148
AANE	0,898	-0,074	-0,394
AAT	0,923	0,016	-0,351
TEAC	0,771	0,454	-0,047
Clorofilas	-0,246	0,106	0,962
CH	-0,915	0,358	0,139
CRA	-0,077	-0,989	0,011
CRAC	-0,214	-0,960	0,079
Variabilidad explicada (%)	50,04	27,65	19,88

Como se puede observar, las muestras de invierno y otoño se agrupan con valores positivos de CP1 y negativos de CP2, lo que parece indicar que las características fisicoquímicas, funcionales y tecnológicas de las algas en ambas estaciones son similares estando relacionados con los parámetros ambientales.

En verano y primavera, sin embargo, se produce una diferenciación con respecto al resto de estaciones en cuanto a CP2, pero también entre ambas atendiendo a CP1. Así, mientras en primavera los valores de CP1 y CP2 son positivos, en verano, los valores de CP1 son negativos. Este resultado vuelve a remarcar el hecho de que el cierre de las compuertas durante el verano modifica considerablemente las condiciones del medio y, como consecuencia, *U. rigida* varía considerablemente su composición y propiedades tecnológicas.



**Figura 2.14.** Análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de *U. rigida* recolectadas en estero a lo largo del año.

## 2.5. Conclusiones

El presente estudio es el primero en investigar la influencia de los esteros de salinas tradicionales en la Bahía de Cádiz, sobre la composición proximal, las propiedades funcionales y las propiedades tecnológicas de la lechuga de mar (*Ulva rigida*). Esta alga se ha demostrado como una buena fuente de proteínas, lípidos, cenizas, carbohidratos, ácidos grasos, aminoácidos, macro-minerales (Na, K, Ca, Mg) y otros minerales traza (Fe, Cu y Zn), con una relación Na/K y Ca/Mg que favorecen un consumo saludable. Además, sus niveles de metales (As, Cd, Co, Cr, Hg, Ni, Pb y Sn) no sugieren toxicidad para el consumo humano, estando por debajo de los límites de metales tóxicos establecidos por varias legislaciones. Por lo tanto, estas algas se pueden usar para consumo directo o como ingrediente alimentario para ayudar a cumplir con la ingesta diaria recomendada de algunos minerales y oligoelementos. Además, este estudio ha revelado que las condiciones específicas de esta área de recolección determinan la composición y propiedades de *U. rigida*, durante todo el año y, particularmente, en verano. Los esteros tienen condiciones ambientales muy particulares para el desarrollo del alga, como valores altos de temperatura, salinidad y concentración de nutrientes de sus aguas, y bajo pH y oxígeno disuelto. Estas condiciones varían considerablemente durante todo el año, llegando a ser extremas en verano cuando las compuertas están cerradas y se favorece la evaporación del agua para la extracción de sal.

En cuanto a sus propiedades tecnológicas, *U. rigida* presenta una capacidad de hidratación más baja que las obtenidas en otros estudios, pero mayor capacidad de retención de aceite, por lo que esta alga podría usarse como materia prima o ingrediente para elaboración de emulsiones alimentarias tales como paté, salsas y mousses, así como otros productos funcionales con alto valor nutricional.

Los resultados sugieren que los esteros pueden considerarse un área prometedora para la recolección sostenible, e incluso el cultivo, de *U. rigida* con un alto valor nutricional y funcional, agregando ingresos adicionales para la industria local de las salinas y favoreciendo el desarrollo industrial en la Bahía de Cádiz.



## 2.6. Bibliografía

- AOAC, 2006. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, Philadelphia, USA.
- APROMAR, 2019. *La Acuicultura en España*. Apromar 91. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>
- Benjama, O., Masniyom, P., 2011. Nutritional composition and physicochemical properties of two green seaweeds (*Ulva pertusa* y *U. intestinalis*) from the Pattani Bay in Southern Thailand. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33, 575–583.
- Bermejo, R., Macías, M., Cara, C.L., Sánchez-García, J., Hernández, I., 2018. Culture of *Chondracanthus teedei* and *Gracilariopsis longissima* in a traditional salina from southern Spain. *J. Appl. Phycol.* 31, 561–573. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1516-0>
- Bermejo, R., Vergara, J.J., Hernández, I., 2012. Application y reassessment of the reduced species list index for macroalgae to assess the ecological status under the Water Framework Directive in the Atlantic coast of Southern Spain. *Ecol. Indic.* 12, 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.04.008>
- Besada, V., Andrade, J.M., Schultze, F., González, J.J., 2009. Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *J. Mar. Syst.* 75, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2008.10.010>
- Blaustein, M.P., Leenen, F.H.H., Chen, L., Golovina, V.A., Hamlyn, J.M., Pallone, T.L., Van Huysse, J.W., Zhang, J., Wier, W.G., 2011. How NaCl raises blood pressure: a new paradigm for the pathogenesis of salt-dependent hypertension. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 302, H1031–H1049. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00899.2011>
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199–1200. <https://doi.org/10.2307/3280933>
- Bocanegra, A., Bastida, S., Benedí, J., Ródenas, S., Sánchez-Muniz, F.J., 2009. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *J. Med. Food* 12, 236–258. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0151>
- Boulom, S., Robertson, J., Hamid, N., Ma, Q., Lu, J., 2014. Seasonal changes in lipid, fatty acid,  $\alpha$ -tocopherol and phytosterol contents of seaweed, *Undaria pinnatifida*, in the Marlborough Sounds, New Zealand. *Food Chem.* 161, 261–269. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.007>
- Chan, P.T., Matanjun, P., 2017. Chemical composition y physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Food Chem.* 221, 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.066>
- Chitravathi, K., Chauhan, O.P., Raju, P.S., 2015. Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of green chillies (*Capsicum annuum* L.). *Food Packag. Shelf Life* 4, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.02.001>
- Chung, I.K., Sondak, C.F.A., Beardall, J., 2017. The future of seaweed aquaculture in a rapidly changing world. *Eur. J. Phycol.* 52, 495–505. <https://doi.org/10.1080/09670262.2017.1359678>
- Circuncisão, A.R., Catarino, M.D., Cardoso, S.M., Silva, A.M.S., 2018. Minerals from macroalgae origin: Health benefits and risks for consumers. *Mar. Drugs* 16. <https://doi.org/10.3390/md16110400>

- DeLuccia, R., Cheung, M., Ng, T., Ramadoss, R., Altasan, A., Sukumar, D., 2019. Calcium to magnesium ratio higher than optimal across age groups (P10-100-19). *Curr. Dev. Nutr.* 3, 868. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzz034.p10-100-19>
- Drake, P., Arias, A.M., 1997. The effect of aquaculture practices on the benthic macroinvertebrate community of a lagoon system in the Bay of Cadiz (southwestern Spain). *Estuaries* 20, 677. <https://doi.org/10.2307/1352243>
- Duarte, C.M., Hendriks, I.E., Moore, T.S., Olsen, Y.S., Steckbauer, A., Ramajo, L., Carstensen, J., Trotter, J.A., McCulloch, M., 2013. Is ocean acidification an open-ocean syndrome? Understanding anthropogenic impacts on seawater pH. *Estuaries and Coasts* 36, 221–236. <https://doi.org/10.1007/s12237-013-9594-3>
- Duggeon, S.R., Kübller, J.E., Vadas, R.L., Davisosn, I.R., 1995. Physiological responses to environmental variation in intertidal red algae: does thallus morphology matter? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 117, 193–206.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H., 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.* 124, 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Falkowski, P.G., LaRoche, J., 1991. Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol.* 27, 8–14.
- Fernández-Segovia, I., Lerma-García, M.J., Fuentes, A., Barat, J.M., 2018. Characterization of Spanish powdered seaweeds: Composition, antioxidant capacity and technological properties. *Food Res. Int.* 111, 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.037>
- Fleurence, J., Le Coeur, C., Mabeau, S., Maurice, M., Landrein, A., 1995. Comparison of different extractive procedures for proteins from the edible seaweeds *Ulva rigida* and *Ulva rotundata*. *J. Appl. Phycol.* 7, 577–582. <https://doi.org/10.1007/BF00003945>
- Floreto, E.A.T., Teshima, S., 1998. The fatty acid composition of seaweeds exposed to different levels of light intensity and salinity. *Bot. Mar.* 41, 467–481. <https://doi.org/10.1515/botm.1998.41.1-6.467>
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G., 1957. A Simple Method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2011.03.005>
- Gao, G., Clare, A.S., Chatzidimitriou, E., Rose, C., Caldwell, G., 2018. Effects of ocean warming and acidification, combined with nutrient enrichment, on chemical composition and functional properties of *Ulva rigida*. *Food Chem.* 258, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.040>
- Gonski, S.F., Cai, W.-J., Ullman, W.J., Joesoef, A., Main, C.R., Pettay, D.T., Martz, T.R., 2018. Assessment of the suitability of Durafet-based sensors for pH measurement in dynamic estuarine environments. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 200, 152–168. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.10.020>
- Gracia, F.J., Alonso, C., Abarca, J.M., 2017. Geomorphology and historical evolution of salt explotations in salt marshes. Examples from the bay of Cadiz. *Cuaternario y Geomorfol.* 31, 45. <https://doi.org/10.17735/cyg.v31i1-2.54681>
- Grigelmo-Miguel, N., Martín-Belloso, O., 1999. Influence of fruit dietary fibre addition on physical and sensorial properties of strawberry jams. *J. Food Eng.* 41, 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00067-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00067-9)
- Harnedy, P.A., FitzGerald, R.J., 2011. Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *J. Phycol.* 47, 218–232. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00969.x>

- Harwood, J.L., Guschina, I.A., 2009. The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie* 91, 679–684. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.11.004>
- Henderson, J.W., Ricker, R.D., Bidlingmeyer, B. a, Woodward, C., 2000. Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids. *Amino Acids* 1–10.
- Holdt, S.L., Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.* <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Hurd, C.L., Harrison, P.J., Bischof, K., Lobban, C.S., 2014. *Seaweed ecology y physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Israel, A., Martinez-Goss, M., Friedlander, M., 1999. Effect of salinity and pH on growth and agar yield of *Gracilaria tenuistipitata* var. liui in laboratory and outdoor cultivation. *J. Appl. Phycol.* 11, 543–549. <https://doi.org/10.1023/A:1008141906299>
- Khairy, H.M., El-Shafay, S.M., 2013. Seasonal variations in the biochemical composition of some common seaweed species from the coast of Abu Qir Bay, Alexandria, Egypt. *Oceanologia* 55, 435–452. <https://doi.org/10.5697/oc.55-2.435>
- Khan, N., Ryu, K.Y., Choi, J.Y., Nho, E.Y., Habte, G., Choi, H., Kim, M.H., Park, K.S., Kim, K.S., 2015. Determination of toxic heavy metals and speciation of arsenic in seaweeds from South Korea. *Food Chem.* 169, 464–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.020>
- Kilinc, B., Cirik, S., Turan, G., Tekogul, H., Koru, E., Berna Kilinc, Semra, C., Gamze, T., Tekogul, H., Koru, E., 2008. Seaweeds for food and Industrial Applications, in: *Parallel Manipulators, New Developments*. I-Tech Education and Publishing, 735–748. <https://doi.org/10.5772/5372>
- Kim, D.-O.O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3713–3717. <https://doi.org/10.1021/JF020071C>
- Kumar, M., Kumari, P., Gupta, V., Reddy, C.R.K., Jha, B., 2010. Biochemical responses of red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta) to salinity induced oxidative stress. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 391, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.06.001>
- Kumar, P., Ramakritinan, C.M., Kumaraguru, A.K., 2010. Solvent extraction and spectrophotometric determination of pigments of some algal species from the shore of puthumadam, southeast coast of India. *Int. J. Ocean. Oceanogr.* 4, 29–34. [https://doi.org/10.1016/S0003-3928\(04\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3928(04)00041-1)
- Kumari, P., Kumar, M., Gupta, V., Reddy, C.R.K., Jha, B., 2010. Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chem.* 120, 749–757. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.006>
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Liotenberg, S., Campbell, D., Rippka, R., Houmard, J., Tandeau De Marsac, N., 1996. Effect of the nitrogen source on phycobiliprotein synthesis and cell reserves in a chromatically adapting filamentous cyanobacterium. *Microbiology* 142, 611–622. <https://doi.org/10.1099/13500872-142-3-611>
- Mahalik, N., Kim, K., 2014. Aquaculture monitoring and control systems for seaweed and fish farming. *World J. Agric. Res.* 2, 176–182. <https://doi.org/10.12691/wjar-2-4-7>
- Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A., Moreira, W.S.C., 2006. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresour. Technol.* 97, 2402–2406. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.10.014>

- Mohy El-Din, S.M., 2018. Temporal variation in chemical composition of *Ulva lactuca* and *Corallina mediterranea*. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2128-6>
- Mouritsen, O., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J.L., 2018. World cuisine of seaweeds: Science meets gastronomy. *Int. J. Gastron. Food Sci.* 14, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.09.002>
- Mouritsen, O.G., 2012. The emerging science of gastrophysics and its application to the algal cuisine. *Flavour* 1, 6. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-6>
- Munda, I.M., Kremer, B.P., 1977. Chemical composition and physiological properties of fucoids under conditions of reduced salinity. *Mar. Biol.* 42, 9–15. <https://doi.org/10.1007/BF00392009>
- Mutia, G., Matern, M., 2018. Analysis of bio-accumulation of heavy metals in seaweeds *Ulva rigida* and *Halimeda opuntia* in validation of their safety for use in aquaculture feeds in Kenya. *IJSR-JESTFT* 12, 56–63. <https://doi.org/10.9790/2402-1208015663>
- Naidu, K.A., Tewari, A., Joshi, H. V., Viswanath, S., Ramesh, H.P., Rao, S.V., 1993. Evaluation of nutritional quality and food safety of seaweeds of India. *J. Food Saf.* 13, 77–90. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.1993.tb00096.x>
- Nascimento, A., Coelho-Gomes, C., Barbarino, E., Lourenço, S.O., 2014. Temporal variations of the chemical composition of three seaweeds in two tropical coastal environments. *Open J. Mar. Sci.* 04, 118–139. <https://doi.org/10.4236/ojms.2014.42013>
- Nelson, M.M., Phleger, C.F., Nichols, P.D., 2002. Seasonal lipid composition in macroalgae of the Northeastern Pacific Ocean. *Bot. Mar.* 45, 58–65. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.007>
- Norziah, M.H., Ching, C.Y., 2000. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chem.* 68, 69–76.
- Nunes, N., Ferraz, S., Valente, S., Barreto, M.C., Pinheiro de Carvalho, M.A.A.A., 2017. Biochemical composition, nutritional value, and antioxidant properties of seven seaweed species from the Madeira Archipelago. *J. Appl. Phycol.* 29, 2427–2437. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1074-x>
- Ogunwolu, S.O., Henshaw, F.O., Mock, H.P., Santos, A., Awonorin, S.O., 2009. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food Chem.* 115, 852–858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.011>
- Organisation for Economic Co-operation y Development., 2016. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025*. [https://doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2016-en](https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en)
- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernández, J., Bozzo, C., Navarrete, E., Osorio, A., Rios, A., 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chem.* 99, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.027>
- Paiva, L., Lima, E., Neto, A.I., Marccone, M., Baptista, J., 2017. Nutritional and functional bioactivity value of selected azorean macroalgae: *Ulva compressa*, *Ulva rigida*, *Gelidium microdon* and *Pterocladia capillacea*. *J. Food Sci.* 82, 1757–1764. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13778>
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T.P., Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L.E., 2011. Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Food Chem.* 129, 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.104>
- Pérez-Hurtado, A., 2004. *Salinas de Andalucía*, 2004th ed.

- Pérez-Lloréns, J.L., Brun, F.G., Andría, J., Vergara, J.J., 2004. Seasonal and tidal variability of environmental carbon related physico-chemical variables and inorganic C acquisition in *Gracilariopsis longissima* and *Enteromorpha intestinalis* from Los Toruños salt marsh (Cádiz Bay, Spain). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 304, 183–201. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.12.003>
- Quitral, V., Morales, C., Sepúlveda, M., Schwartz, M., 2012. Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Rev. Chil. Nutr.* 39, 196–202. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182012000400014>
- Reglamento (UE) N° 420/2011, de 29 de abril de 2011, que modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- Rioux, L.-E.E., Beaulieu, L., Turgeon, S.L., 2017. Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. *Food Hydrocoll.* 68, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.005>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Rubio, C., Napoleone, G., Luis-González, G., Gutiérrez, A.J., González-Weller, D., Hardisson, A., Revert, C., 2017. Metals in edible seaweed. *Chemosphere* 173, 572–579. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.064>
- Rybak, A.S., 2018. Species of *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) as indicators of salinity. *Ecol. Indic.* 85, 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.10.061>
- Sakthivel, R., Pandima Devi, K., 2015. Evaluation of physicochemical properties, proximate and nutritional composition of *Gracilaria edulis* collected from Palk Bay. *Food Chem.* 174, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.142>
- Sánchez-García, J., Palacios, V., Roldán, A., 2016. Nutritional potential of four seaweed species collected in the Barbate Estuary (Gulf of Cadiz, Spain). *J. Nutr. Food Sci.* 06, 4–10. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000505>
- Sánchez-Rodríguez, I., Huerta-Díaz, M., Choumiline, E., Holguín-Quñones, O., Zertuche-González, J., 2001. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: implications for the geochemical control of metals in algal tissue. *Environ. Pollut.* 114, 145–160. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00223-2](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00223-2)
- Santos, J.P., Guihéneuf, F., Fleming, G., Chow, F., Stengel, D.B., 2019. Temporal stability in lipid classes and fatty acid profiles of three seaweed species from the north-eastern coast of Brazil. *Algal Res.* 41, 101572. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101572>
- Struck, B.D., Pelzer, R., Ostapczuk, P., Emons, H., Mohl, C., 1997. Statistical evaluation of ecosystem properties influencing the uptake of As, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn in seaweed (*Fucus vesiculosus*) and common mussel (*Mytilus edulis*). *Sci. Total Environ.* 207, 29–42. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)00246-5](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(97)00246-5)
- Sudhir, P., Murthy, S.D.S., 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* 42, 481–486. <https://doi.org/10.1007/S11099-005-0001-6>
- Suresh Kumar, K., Ganesan, K., Subba Rao, P. V., 2015. Seasonal variation in nutritional composition of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—an edible seaweed. *J. Food Sci. Technol.* 52, 2751–2760. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1372-0>

- Trigui, M., Gasmi, L., Zouari, I., Tounsi, S., 2013. Seasonal variation in phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of *Ulva rigida* (Chlorophyta) and assessment of antiacetylcholinesterase potential. *J. Appl. Phycol.* 25, 319–328. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9866-5>
- Valentina, J., Poongzhali, T., Josmin Laali Nisha, L.L., Sumathi, E., 2015. Estimation of protein, carbohydrate and mineral content in selected seaweeds. *Int. J. Curr. Res.* 7, 11329–11333.
- Viuda-Martos, M., López-Marcos, M.C., Fernández-López, J., Sendra, E., López-Vargas, J.H., Pérez-Álvarez, J.A., 2010. Role of fiber in cardiovascular diseases : A review. *Compr. Rev. Food Saf.* 9, 240–258. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00102.x>
- Wong, K., Cheung, P.C., 2000. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. *Food Chem.* 72, 11–17. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00176-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00176-X)
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H., 2011. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chem.* 128, 895–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.114>
- Zhao, Y., Shang, D., Ning, J., Zhai, Y., 2012. Arsenic and cadmium in the marine macroalgae (*Porphyra yezoensis* and *Laminaria japonica*) forms and concentrations. *Chem. Speciat. Bioavailab.* 24, 197–203. <https://doi.org/10.3184/095422912X13404690516133>
- Zhou, A.Y., Robertson, J., Hamid, N., Ma, Q., Lu, J., 2015. Changes in total nitrogen and amino acid composition of New Zealand *Undaria pinnatifida* with growth, location and plant parts. *Food Chem.* 186, 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.016>
- Zubia, M., Freile-Pelegrín, Y., Robledo, D., 2014. Photosynthesis, pigment composition and antioxidant defences in the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales, Rhodophyta) under environmental stress. *J. Appl. Phycol.* 26, 2001–2010. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0325-3>

## Índice de figuras

<b>Figura 2.1.</b> Evolución de la producción de acuicultura mundial por grupos, para el periodo 1950-2017 (FAO) .....	56
<b>Figura 2.2.</b> Vista aérea de la Salina La Esperanza, Puerto Real .....	58
<b>Figura 2.3.</b> Estructura de una salina costera tradicional.....	59
<b>Figura 2.4.</b> Mapa del área de recolección de <i>U. rigida</i> en los esteros de la salina La Esperanza .60	
<b>Figura 2.5.</b> Sonda multiparamétrica y refractómetro .....	61
<b>Figura 2.6.</b> Determinación de proteínas: digestión, destilación y valoración de las muestras .....	62
<b>Figura 2.7.</b> Extracción de lípidos, filtrado y secado del extracto con nitrógeno líquido .....	62
<b>Figura 2.8.</b> Pasos a seguir para la determinación de CH .....	66
<b>Figura 2.9.</b> Pasos a seguir para la determinación de CRA .....	67
<b>Figura 2.10.</b> Pasos a seguir para la determinación de CRAC .....	67
<b>Figura 2.11.</b> Variabilidad estacional en la composición proximal de <i>U. rigida</i> .....	70
<b>Figura 2.12.</b> Variaciones en la capacidad antioxidantes y contenido de clorofila en <i>U. rigida</i> a lo largo del año .....	81
<b>Figura 2.13.</b> Variabilidad estacional de las propiedades tecnológicas de <i>U. rigida</i> a lo largo del año .....	83
<b>Figura 2.14.</b> Análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de <i>U. rigida</i> recolectadas en estero a lo largo del año .....	86

## Índice de tablas

<b>Tabla 2.1.</b> Variables fisicoquímicas del agua de mar en el área de estudio a lo largo del año .....	68
<b>Tabla 2.2.</b> Coeficiente de correlación entre los parámetros fisicoquímicos del agua de mar y la composición de <i>U. rigida</i> .....	71
<b>Tabla 2.3.</b> Cambios estacionales en el contenido de macro y micro minerales en <i>U. rigida</i> recolectada en estero .....	73
<b>Tabla 2.4.</b> Variaciones estacionales en la composición de ácidos grasos de los lípidos de <i>U. rigida</i> .....	77
<b>Tabla 2.5.</b> Variaciones estacionales en la composición de aminoácidos libres en <i>U. rigida</i> .....	79
<b>Tabla 2.6.</b> Puntuaciones de las componentes obtenidas en el ACP .....	85







## Capítulo 3.1

Evaluación de la calidad, frescura y vida útil de *Ulva rigida* de estero por métodos físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales



*Ulva* spp. fresca de estero de la bahía de Cádiz envasada, suministrada por la empresa Suralgas

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 3.1



# INDICE

<b>3.1. Evaluación de la calidad, frescura y vida útil del alga <i>Ulva rigida</i> de estero por métodos físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales</b>	101
<b>3.1.1. Resumen</b>	101
<b>3.1.2. Introducción</b>	102
<b>3.1.3. Material y métodos</b>	104
<i>3.1.3.1. Recolección y preparación de muestras</i>	104
<i>3.1.3.2. Análisis físicos</i>	105
<i>3.1.3.3. Análisis químicos</i>	106
<i>3.1.3.4. Análisis microbiológico</i>	108
<i>3.1.3.5. Análisis sensorial</i>	108
<b>3.1.4. Resultados y discusión</b>	110
<i>3.1.4.1. Análisis físicos</i>	110
<i>3.1.4.2. Análisis químicos</i>	116
<i>3.1.4.3. Análisis microbiológico</i>	119
<i>3.1.4.4. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo</i>	122
<b>3.1.5. Conclusiones</b>	128
<b>3.1.6. Bibliografía</b>	129
 <b>Índice de figuras</b>	 133
<b>Índice de tablas</b>	133



### 3.1. Evaluación de la calidad, frescura y vida útil del alga *Ulva rigida* de estero por métodos físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales

#### 3.1.1. Resumen

En Europa, el consumo de algas y productos derivados se ha estimulado en los últimos años, debido a la expansión de la cocina asiática, las nuevas tendencias gastronómicas y el lanzamiento de nuevos productos a partir de algas. Sin embargo, poco se conoce acerca de la calidad y el grado de frescura de las algas para su consumo directo o uso en fresco. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad, frescura y vida útil de *Ulva rigida* recolectada en los esteros de la Bahía de Cádiz durante su conservación en condiciones de refrigeración de 4 y 16 °C. Para llevar a cabo esta evaluación, y en base a los pocos estudios previos sobre este tema, se utilizaron diferentes métodos aplicados tanto a verdura y hortalizas como a algas, y otros productos marinos. Estos métodos incluyeron análisis físico ( $a_w$ , pH, color y textura), químico (clorofila, carotenoides, TVB y TMA), microbiológico (recuentos de gérmenes) y sensorial. Los resultados indicaron que la pérdida de frescura y calidad bajo las condiciones de refrigeración estudiadas se producen desde los primeros días de almacenamiento. Sin embargo, los signos de alteración y deterioro no comienzan hasta los 8-10 días de conservación en función de la temperatura. La calidad de *U. rigida* se mantuvo mejor almacenada a baja temperatura. Los parámetros más útiles para determinar la pérdida de calidad y frescura fueron el pH, el porcentaje de exudado, el color y la textura, además del análisis sensorial. Las bases volátiles y la trimetilamina fueron indicativos de deterioro por actividad microbiana, mostrando una relación directa con el alto recuento de gérmenes y los síntomas sensoriales de deterioro. La vida útil de *U. rigida* refrigerada a 4 °C sería de una semana, aunque durante ese tiempo, ya se producen modificaciones que pueden condicionar su empleo para aplicaciones culinarias o desarrollo de productos a partir de alga fresca. Los resultados de este estudio proporcionan información útil acerca de la evolución de la calidad y frescura de *U. rigida* durante su almacenamiento en refrigeración y de los métodos más adecuados para su determinación. Gracias a estos métodos se puede establecer su vida útil y promover su uso como vegetales frescos, además de permitir el desarrollo de métodos de conservación que aseguren la calidad y vida útil de *U. rigida* fresca.

### 3.1.2. Introducción

En los últimos años se ha incrementado el interés por las dietas más saludables basadas en alimentos marinos. También se utilizan ingredientes de origen marino como pueden ser los aceites y proteínas de pescado, las algas, las microalgas o sus compuestos bioactivos. De hecho, muchos de estos productos e ingredientes se están utilizando para desarrollar nuevos productos funcionales o para conseguir que alimentos como la carne, el pescado, los productos lácteos o los vegetales sean más "funcionales" (Jiménez-Colmenero, 2007) y mejoren la vida útil, propiedades nutricionales, texturales, organolépticas, sensoriales y saludables de los productos finales (Poojary *et al.* 2016; Roohinejad *et al.* 2017).

Las algas son bien conocidas por su abundancia en nutrientes (Cardoso *et al.*, 2015), componentes bioactivos (Holdt, y Kraan, 2011), propiedades tecnológicas (Fernández-Segovia *et al.*, 2018) y otros beneficios potenciales para la salud (Cian *et al.*, 2015). Además, las algas también tienen propiedades organolépticas interesantes, como pueden ser el aroma (marino, crustáceos y notas verdes) y el sabor (umami), que podrían permitir su inclusión como condimento en alimentos procesados. Asimismo, permitir el desarrollo de nuevos productos alimentarios marinos (Ferraces-Casais *et al.*, 2013) y muchas innovaciones culinarias (Rioux *et al.*, 2017) con gran potencial gastronómico. Además, la reciente popularidad de la cocina asiática ha estimulado la economía de las algas fomentando la creación de nuevos platos por los chefs en restaurantes (Pérez Lloréns *et al.*, 2018) y el lanzamiento al mercado entre 2015-2016 de nuevos productos a partir de algas (crisps, galletas, tagliatelle, etc.) (Rioux *et al.*, 2017). Estos nuevos tipos de industrias se han desarrollado en los últimos años debido a la demanda de los consumidores europeos (Mesnildrey *et al.*, 2013). En Francia, las algas frescas se consumen bajo el nombre de "vegetales del mar" y se venden principalmente en tiendas orgánicas o de productos saludables, pero también se pueden encontrar en "delicatesen". En España, se pueden encontrar algas marinas deshidratadas o en polvo, entre otras presentaciones, en los supermercados, y en los últimos años también se han desarrollado nuevos productos a base de algas marinas para consumo humano (Fernández-Segovia *et al.*, 2018). Las algas se venden en diferentes formatos, como productos crudos (secos o salados), condimentos y productos para untar (puré de algas). Al igual que en otros alimentos marinos (pescado y marisco), las algas tienen una

naturaleza perecedera y, por tanto, deben someterse inmediatamente a procesos de secado para reducir su actividad de agua y prolongar su vida útil (Gupta *et al.*, 2011). El secado en redes (Moore *et al.*, 2002) o industrial a una temperatura de 50 °C (Gupta *et al.*, 2011; López-Pérez *et al.*, 2017) son los procesos más utilizados para secar las algas marinas e influyen en las propiedades sensoriales y funcionales de las mismas (Gupta *et al.*, 2011; Tello-Ireland *et al.*, 2011).

La calidad de las algas marinas frescas y la evaluación de su vida útil no se han estudiado en profundidad, pero es necesario garantizar la calidad mínima del producto y especialmente su seguridad alimentaria. De hecho, la frescura es el atributo más importante cuando se evalúa la calidad del pescado y otros productos marinos (Alasalvar *et al.*, 2001). La aceptación en el mercado de los productos marinos por parte del consumidor depende de su estado de frescura, basados principalmente en su apariencia y aroma. Los principales parámetros de calidad para el pescado fresco son el aroma, el sabor, la textura y la respuesta sensorial (Alasalvar *et al.*, 2001), pero el análisis sensorial se ha considerado menos objetivo y reproducible que el análisis instrumental. Además, el método sensorial necesita un panel bien entrenado que incluya varios miembros debido a la ligera diferencia de los sentidos humanos (Ólafsdóttir *et al.*, 1997). Por este motivo ha sido necesario desarrollar métodos fiables de determinación de la frescura del pescado en las primeras etapas (Triqui, 2006). Se utilizan diferentes metodologías para evaluar la vida útil del pescado y otros productos marinos. Para evaluar la frescura y calidad de los productos marinos se utilizan métodos convencionales que incluyen métodos sensoriales (métodos de índice de calidad, QIM), físicos (color, textura y uso de sensores para propiedades específicas), microbiológicos (recuento de microorganismos viables) y químicos (aminas biogénicas, bases volátiles totales (TVB), trimetilamina (TMA), nucleótidos y nucleósidos) (Armenta *et al.*, 2006; Barat *et al.*, 2006; Pacquit *et al.*, 2006).

El análisis sensorial ha sido la única forma, hasta hace poco, de evaluar la frescura de las algas marinas, aunque algunos autores han estudiado color, textura, pérdida de humedad, proteínas solubles y recuento microbiológico como parámetros de calidad de las algas marrones y rojas sometidas a diferentes tratamientos térmicos o temperaturas de almacenamiento (Blikra *et al.*, 2018; Nayyar y Skonberg, 2018). Sin embargo, no todos los parámetros fueron útiles para determinar cambios de calidad o necesitan ajustes en función del tipo de alga marina. Por ello, es necesario establecer métodos adecuados



para detectar el deterioro de las algas marinas y, por tanto, determinar su estado de frescura, calidad y vida útil. Al mismo tiempo, la vida útil dependerá del alga y de las condiciones de almacenamiento después de la recolección. Estos métodos, además de establecer la vida útil de las algas marinas frescas, pueden mejorar las técnicas de conservación y establecer otras posibles formas de uso.

El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios químicos, físicos y sensoriales sufridos por la especie *Ulva rigida* durante su deterioro y así establecer los parámetros que determinan su frescura, calidad y vida útil. Para llevar a cabo esta evaluación y en base a los pocos estudios previos sobre este tema, se utilizaron diferentes métodos. Estos métodos incluyeron análisis físico ( $a_w$ , pH, color y textura), químico (clorofila, carotenoides, TVB y TMA), microbiológico (recuentos de gérmenes) y sensorial, previamente aplicado a algas y otros productos marinos (peces y mariscos).

### 3.1.3. Material y métodos

#### 3.1.3.1. Recolección y preparación de muestras

Las muestras frescas de *U. rigida* se recolectaron en la salina San Judas localizada en San Fernando, Cádiz (36,48 N, 6,28 W), en febrero de 2018. Las muestras se mantuvieron en un tanque con agua de mar estéril durante 24 horas para eliminar los restos de arena y epífitos antes de su envasado en bolsas de 250 g (Figura 3.1.1). Seguidamente, se realizó una separación de las muestras de algas para almacenarlas a dos temperaturas diferentes (4 y 16 °C) en condiciones de oscuridad durante 12 días. Durante este tiempo, se tomaron muestras periódicamente por duplicado cada 2 días (0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12).

Cada muestra de algas se liofilizó durante 48 horas, previa congelación inmediatamente tras su toma, empleando un liofilizador Virtis K (Warminster, PA, EE.UU.) y una vez liofilizadas, se molieron utilizando un molinillo de café (Carrefour Home Coffee Grander, Les Ulis, Francia). Las muestras molidas se almacenaron en un desecador a temperatura ambiente hasta su análisis. Previamente a la congelación y posterior liofilización, se separó y reservó una parte de cada muestra para el análisis sensorial. Como punto inicial (tiempo cero) se utilizó el alga lavada y escurrida, para eliminar el exceso de agua.



**Figura 3.1.1.** Proceso de higienización y envasado de las algas.

### 3.1.3.2. Análisis físicos

La  $a_w$  de las muestras se determinó a 25 °C ( $\pm 0,2$  °C) usando un medidor de actividad de agua, modelo Aqualab Serie 3 (Decagon Devices, Pullman, Washington, EE. UU.), equipado con sistema de temperatura controlada que permite tener un ambiente estable a la temperatura durante las mediciones.

El pH se determinó a 25 °C ( $\pm 0,2$  °C) con un medidor de pH modelo Micro pH 2001 (Crison Instruments, S. D., Barcelona, España) provisto de un electrodo de penetración con cuerpo de POM que permite su aplicación en alimentos sólidos, modelo 52-32. El medidor de pH se calibró utilizando tampones estándar de pH 4,0 y 7,0 antes de las mediciones.

La pérdida por goteo, definida por Nayyar y Skonberg (2018) como los fluidos celulares perdidos durante el almacenamiento, se determinó por separación del agua de exudado y posterior medida de volumen de líquido expresando los resultados como porcentaje de pérdida de agua en comparación con el peso inicial de la muestra.

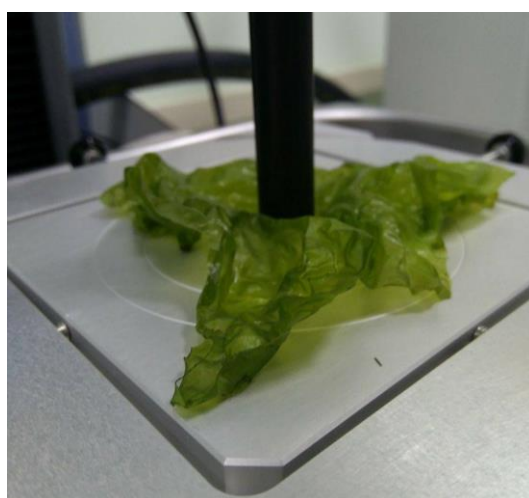
El color de *U. rigida* durante el almacenamiento se evaluó utilizando un espectrofotómetro portátil CM-2600d (Konica Minolta Co., Osaka, Japón) diseñado para evaluar el color, el brillo relativo y las características UV de las muestras con superficies planas y tamaño variable. El espectrofotómetro se calibró con una placa blanca estándar

y una negra, y se utilizó el software SpectraMagic™ NX para registrar mediciones y analizar el color. Las muestras (~ 0,5 g) se colocaron en una placa de Petri que cubría su superficie de manera uniforme. Los valores de luminosidad ( $L^*$ , negro=0, blanco=100), componente rojo-verde ( $a^*$ , rojo>0, verde<0) y componente amarillo-azul ( $b^*$ , amarillo>0, azul<0) se midieron cinco veces para cada muestra realizando rotaciones de la placa de Petri. Para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el color del alga, se calculó el cambio de color ( $\Delta E$ ) para cada día muestreado en comparación con los valores del día 0, utilizando la ecuación de Silva y Silva (1999):

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2}$$

Donde  $L_0$ ,  $a_0$  y  $b_0$  son los valores de luminosidad, enrojecimiento y amarillez para el día 0 de la prueba.

El perfil de textura se analizó utilizando un analizador de textura TA1 (Lloyd-Instruments, AMETEK GmbH, Meerbusch, Alemania) plataforma equipada con una celda de carga de compresión de 80 N. Las algas se cortaron en piezas cuadradas (3 cm x 3 cm) y permanecieron frías hasta el análisis de textura. Se usó una sonda cilíndrica de fondo plano Tipo P/0,5 de 12.5 mm de diámetro para comprimir las muestras (Figura 3.1.2.) con una velocidad programada constante de 4 mm s<sup>-1</sup>. El software de análisis de textura Nexygen Plus 3.0 para Windows (Lloyd-instruments, AMETEK GmbH, Meerbusch, Alemania) registró tres muestras por réplica y para cada temperatura y tiempo.



**Figura 3.1.2.** Medición de textura en la muestra con una sonda cilíndrica.

### 3.1.3.3. Análisis químicos

La determinación de pigmentos se realizó siguiendo la metodología de Kumar *et al.* (2010) con algunas modificaciones. La metodología para la extracción de pigmentos se detalló en el capítulo 2, en el apartado 2.3.6. de la metodología. Sin embargo, se describe la medida de los extractos necesaria para la obtención de carotenoides, no mencionada anteriormente. Para la determinación de los pigmentos se usaron cubetas de cuarzo y un espectrofotómetro UV/Vis Modelo U-2001 (Hitachi, Japón), con el cual se realizó un barrido desde 300 a 700 nm, usando como blanco la mezcla empleada para la extracción. Las absorbancias de clorofilas a (Cla) y b (Clb) y los extractos de carotenoides (xantófilas + carotenos) se determinaron a longitudes de onda (A, absorbancia) de 663, 645 y 470 nm, respectivamente. Las concentraciones de los pigmentos (mg g<sup>-1</sup> PS) se calcularon mediante las ecuaciones de Lichtenthaler y Wellburn (1983) para acetona (100%):

$$Cla = 11,75A_{663} - 2,35A_{645}$$

$$Clb = 18,61A_{645} - 3,96A_{663}$$

$$C_{x+c} = 1000A_{470} - 2,27Cla - 81,40Clb/230$$

Las bases volátiles totales (N-BVT) y trimetilamina total (N-TMA) se determinaron de acuerdo al procedimiento de Siang y Kim (1992) con algunas modificaciones utilizando células de difusión Conway. El extracto se preparó mezclando 2 g de alga troceada con 8 ml de TCA al 4% en un bote con tapón de rosca de 50 mL y se homogeneizó adecuadamente. Se agitó durante 5 minutos a temperatura ambiente usando un equipo de ultrasonidos. Luego se filtró a través de un papel de filtro Whatman N°1 y la solución filtrada se conservó en un tubo de vidrio. Se tomó una célula Conway para cada muestra y otra para el blanco. Se pipeteó 1 mL de una solución de ácido bórico al 1% en el anillo interno de cada unidad. En el anillo externo de cada unidad se pipetearon cuidadosamente 1 mL del extracto de la muestra y 1 mL de solución saturada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Seguidamente las células se cubrieron y cerraron con un clip. Las células Conway se colocaron en una estufa a 45 °C durante 45 minutos. Después de eso, la solución del anillo interno se tituló con HCl 0,02 N hasta que la solución de color verde viró a rosa. Se determinó el volumen de titulación promedio de HCl a partir de los resultados de tres titulaciones para cada muestra de algas. También se realizaron dos medidas de blanco

usando 1 mL de TCA al 1%, en lugar de extracto de muestra. Los valores de N-BVT se calcularon usando la siguiente fórmula:

$$N - BVT \left( mg \frac{N}{100g} \right) = ((V_S - V_B) \times N_{HCl} \times 100) / W_S$$

Donde  $V_S$  y  $V_B$  corresponden al volumen gastado de HCl (mL) en el extracto de la muestra y del blanco, respectivamente y  $N_{HCl}$  es la normalidad de HCl (factor 0,02 N x HCl). La determinación de trimetilamina se realizó de la misma forma que para TVB-N, pero antes de la adición de carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), se pipeteó 1 mL de formalina neutralizada al 10% al extracto para reaccionar con amoníaco y así permitir que solo el TMA se difunda sobre la célula Conway. Los valores de TMA se calcularon usando la misma fórmula que para BVT.

#### 3.1.3.4. Análisis microbiológico

El control al microscopio del agua exudada se utilizó como una forma rápida de estimar los niveles de gérmenes en las muestras. Se tomaron alícuotas (1 mL) de agua exudada de cada bolsa y se realizó un conteo por duplicado variando las diluciones y utilizando una cámara Neubauer y azul de metileno como color de contraste. Los resultados se calcularon como número de gérmenes por mL.

#### 3.1.3.5. Análisis sensorial

Diez panelistas entrenados, identificados como catadores familiarizados con los productos marinos y el análisis sensorial, participaron en 7 sesiones de cata. Antes del estudio, se realizó una sesión de desarrollo de descriptores para determinar aquellos que podrían describir las muestras de algas marinas tomando de referencia la Normativa UNE-ISO 13299 (2010). El líder del panel eligió los descriptores que se utilizarían para el entrenamiento y el análisis en función de aquellos habitualmente utilizados en el análisis sensorial de algas y productos relacionados (Peinado *et al.*, 2014; Yamamoto *et al.*, 2014) y de forma consensuada con los panelistas. Se seleccionaron 32 descriptores para la evaluación final (Tabla 3.1.).

**Tabla 3.1.1.** Ficha de análisis sensorial elaborada para la caracterización organoléptica de *U. rigida*.

Producto:	Descriptores	Escala de intensidad						Observaciones
		0	1	2	3	4	5	
Apariencia	Aspecto general							
	Intensidad de color							
	Intensidad de brillo							
Aromas marinos	Pescado fresco							
	Pescado cocinado							
	Pescado seco/salado							
	Pescado podrido							
	Crustáceo							
	Molusco							
	Algas							
	Costa/ Roca							
	Lodos							
Aromas vegetales	Hierba fresca							
	Verduras crudas							
	Vegetales hervidos							
	Vegetales podridos							
	Fruta							
	Champiñón, líquenes							
	Hongos/moho							
Otros aromas	Especias							
	Orina							
	Fuerte, desagradable							
	Otro (definir)							
Sabor y sensación táctil en boca	Intensidad a pescado							
	Intensidad a vegetal							
	Intensidad global							
	Masticabilidad							
	Dureza							
	Persistencia							
Tacto	Dureza							
	Pegajosidad							
	Elasticidad							
Evaluación global								
Observaciones generales:								

Se incluyeron descriptores de apariencia, aroma, tacto en boca, sabor y tacto. Tres características fueron atributos relacionados con la apariencia (aspecto general, intensidad de color, brillo), nueve fueron atributos de pescado y relacionados con el mar (pescado fresco, pescado hervido, pescado seco/salado, pescado podrido, algas, moluscos, crustáceos, costa/roca, lodo), siete fueron atributos relacionados con los

vegetales (hierba fresca, vegetales crudos, vegetales hervidos, frutas, champiñón/líquenes, hongos/moho), tres fueron otros aromas (especias, orina, fuerte/desagradable), seis descriptores fueron sensación táctil y atributos relacionados con el sabor (a pescado, vegetal, intensidad global, persistencia, dureza, masticabilidad) y tres fueron atributos relacionados con el tacto (dureza, adherencia y elasticidad).

Las características del aroma se evaluaron usando escalas de intensidad, marcando con 0 la intensidad más baja y 5 la intensidad más alta. Cada muestra de *U. rigida* se presentó en vasos de vidrio cubiertos con un reloj de vidrio y se mantuvo a temperatura ambiente durante 20 minutos antes del análisis sensorial. El análisis sensorial se realizó en cabinas individuales con iluminación controlada, ubicadas en la sala de cata del Instituto de Viticultura y Agroalimentación (IVAGRO, Puerto Real).

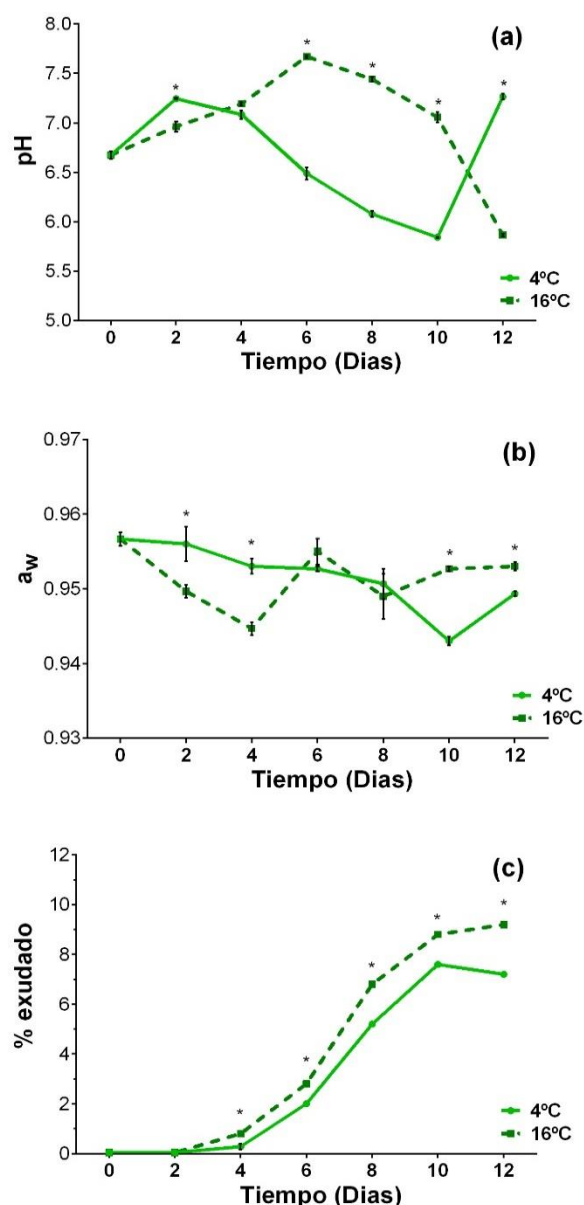
#### 3.1.3.6. Análisis estadístico

Se aplicó el análisis de varianza dos vías (ANOVA) y el test de Tukey para determinar qué tratamientos eran significativamente diferentes entre sí y evaluar los efectos generales del tiempo de almacenamiento y la temperatura. Los datos se analizaron con el software GraphPad Prism, versión 6.01 para Windows (San Diego, CA).

### 3.1.4. Resultados y discusión

#### 3.1.4.1. Análisis físicos

El pH es uno de los métodos físicos de control más utilizados para los productos marinos indicativos de la actividad enzimática o microbiana. Como se puede observar en la Figura 3.1.3.a, *U. rigida* parte de un pH de 6,67 en el momento de su recolección, un valor muy similar a los encontrados en otras especies marinas como pescados, moluscos (Cabello *et al.*, 2004; Lauro, 1980) y mariscos (Büyükcın *et al.*, 2009). Dicho valor es indicativo de que las algas son especies con un pH muy próximo a la neutralidad y, por tanto, fácilmente vulnerables a microorganismos tales como bacterias acéticas (5,4-6,3), bacterias lácticas (5,5-6,5), enterobacterias (6,5-7,5) o *E. coli* (6,0-8,0), siendo el pH 7 el óptimo para el crecimiento de la mayoría de las mismas (Fernández, 2006).



**Figura 3.1.3.** Evolución de los parámetros fisicoquímicos de *U. rigida* durante su conservación a 4 y 16 °C. (a) pH, (b)  $a_w$ , y (c) % exudado. El \* indica las diferencias significativas entre las distintas temperaturas en el mismo día según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los valores muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

El pH, por tanto, puede ralentizar e incluso detener el crecimiento de muchos microorganismos (Fernández, 2006). Sin embargo, un aumento de pH puede provocar un crecimiento más acelerado de algunos microorganismos y a su vez, producir un incremento del pH. Como se puede observar en la Figura 3.1.3.a, *U. rigida* almacenada a 4 °C presenta un ligero aumento de pH los primeros días y una disminución progresiva en los días posteriores, hasta el décimo día que aumenta de forma acusada. Este efecto tiene lugar por la formación y acumulación de ácidos a partir de carbohidratos



principalmente, como el ácido láctico. En el caso de los moluscos, especialmente los bivalvos, se ha demostrado que sufren una alteración usual de origen microbiológico como consecuencia de la fermentación de carbohidratos, desdoblados para formar ácido láctico y alcohol principalmente, en condiciones anaeróbicas (Jay, 2000). Además, se ha observado este comportamiento en algunas verduras, en las que se forman ácidos durante la maduración a partir de la biosíntesis de etileno, como el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) y el ácido indolacético (IAA) (Mworia *et al.*, 2010; Yang y Hoffman, 1984). Las hortalizas suelen contener una escasa proporción de ácidos libres, encontrándose su mayoría en forma de sales, siendo menos ácidas que las frutas y, por consiguiente, más susceptibles a alteraciones microbiológicas. En los últimos días, el pH tiende a aumentar, evolución similar a la observada en pescados una vez comienzan los signos de alteración y deterioro, como consecuencia de la formación de compuestos básicos volátiles a partir de la degradación de proteínas (Huss, 1999; Pascual-Anderson y Calderón-Pascual, 2000). Cuando se almacena a 16 °C la evolución del pH de *U. rigida* es diferente produciéndose un aumento progresivo del pH hasta el octavo día, a consecuencia probablemente de la generación de compuestos básicos. Finalmente, se observa un descenso debido a la formación de aminas biogénicas causantes del mal olor, a partir de proteínas, y favoreciendo el crecimiento de bacterias acéticas y lácticas.

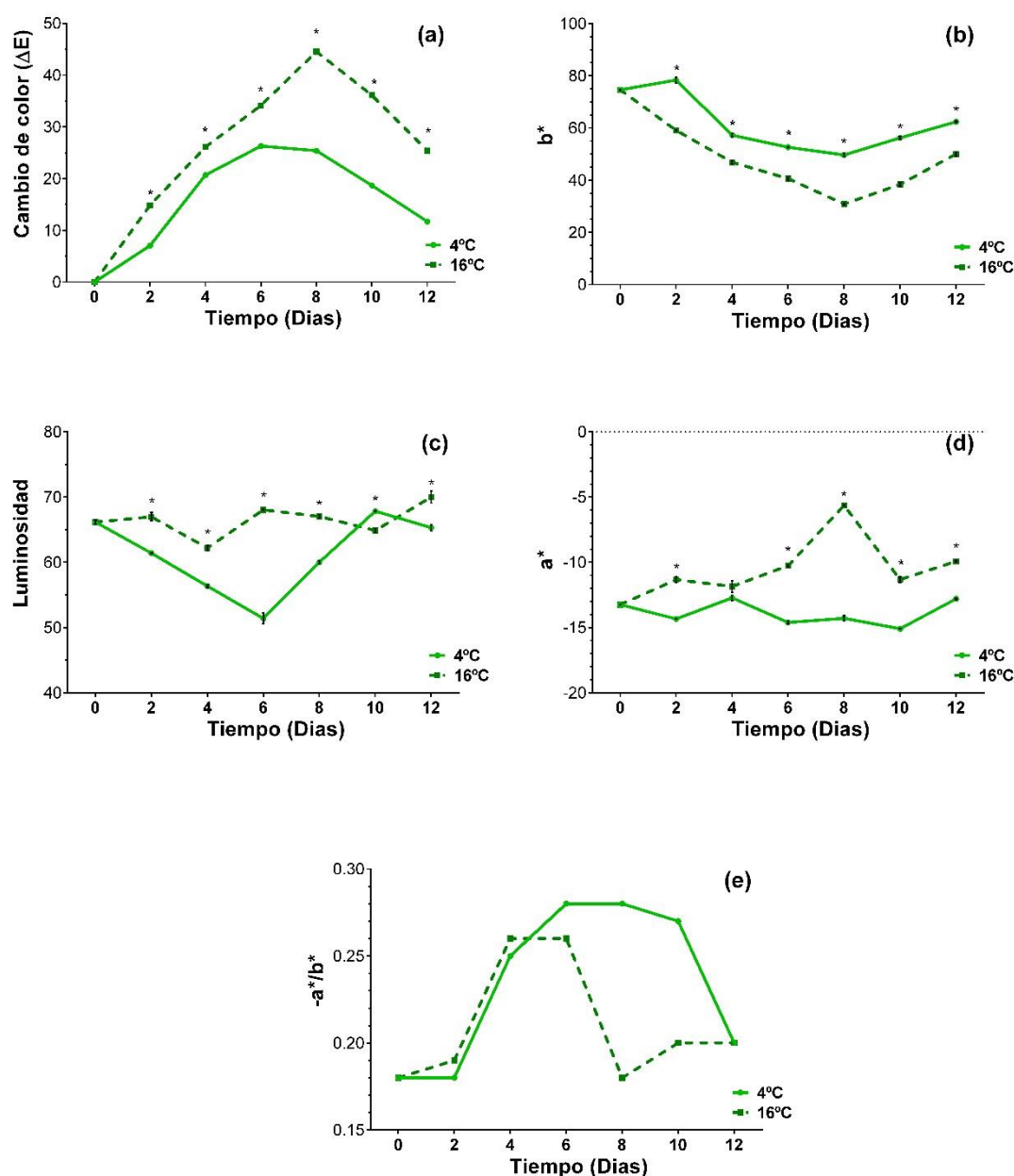
La  $a_w$ , es un parámetro muy utilizado por la industria alimentaria para establecer la estabilidad, principalmente microbiológica, de los alimentos y determinar los mejores métodos de conservación. El valor inicial (Figura 3.1.3.b) está por debajo del que normalmente presentan algunos productos marinos (0,99-0,97) y vegetales (0,97-0,98), aunque no lo suficiente como para inhibir el crecimiento bacteriano, lo cual unido al elevado pH implica poca estabilidad del alga como producto fresco.

Como se puede ver en la Figura 3.1.3.b, durante el almacenamiento, se van a producir ligeras variaciones en el valor de  $a_w$ , con tendencia a disminuir, de forma más acusada cuando el alga se encuentra a 4 °C (0,008). Esto indica una ligera pérdida de humedad y desecación reflejada en el porcentaje de agua por exudado (Figura 3.1.3.c), que llega al 7 y 9% en *U. rigida* almacenada a 4 y 16 °C, respectivamente. Sin embargo, la evolución de la  $a_w$  no se produce de la misma forma a ambas temperaturas, ya que a 4 °C ésta es progresiva, y a 16 °C dicha disminución se produce durante los primeros días, igualando

su valor en el día 4 al valor del día 10 del alga almacenada a 4 °C. A partir de ahí la tendencia va en aumento y a mantenerse, lo que indica que el valor de  $a_w$  se ve influenciado por la humedad de saturación acumulada en la bolsa, mayor en las almacenadas a mas temperatura. Por ello, la actividad de agua es mayor a 16 que, a 4 °C, dichas condiciones han determinado que este parámetro no sea un buen indicativo del grado de deterioro de *U. rigida* durante su almacenamiento.

Sin embargo, la pérdida de agua por exudado (Figura 3.1.3.c), sí parece ser un parámetro indicativo del deterioro del alga y pérdida de calidad. Se observan pérdidas en ambas temperaturas de almacenamiento y su evolución es muy similar. Al igual que en vegetales y hortalizas, los daños por frío causan rotura de la estructura celular y, como consecuencia, se producen pérdidas del líquido celular. Este fenómeno también se observa en las algas, aunque la mayor o menor pérdida por exudado parece estar relacionada con la especie (Nayyar y Skonberg, 2018). En el presente estudio, las pérdidas que se observan son superiores a las obtenidas por Nayyar y Skonberg (2018) para *G. tikvahiae* (2-4,5%) siendo mayores a 16 °C. Dicho fenómeno podría explicarse por la estructura delgada y plana de *U. rigida*, muy similar a los vegetales de hoja verde como la lechuga, cuyo aumento de la actividad respiratoria acelera la pérdida de agua (Ben-Yehoshua y Rodov, 2002).

El color de los vegetales es uno de los factores más importantes para los consumidores, marcando la preferencia y aceptabilidad de los productos (Rico *et al.*, 2007). Por tanto, una pérdida del color inicial favorece la disminución de su calidad. El color verde y luminoso característico de *U. rigida* evoluciona durante su almacenamiento, observándose cambios más acusados a 16 °C, como se puede observar en la Figura 3.1.4. Los valores del cambio de color ( $\Delta E$ ) para el alga almacenada a dicha temperatura aumentan significativamente en el tiempo y más rápido que la almacenada a 4 °C (Figura 3.1.4.a). Dicho comportamiento indica un claro efecto de la temperatura sobre el color. A baja temperatura, el principal cambio se produce en el valor de  $b^*$  (Figura 3.1.4.b) y la luminosidad (Figura 3.1.4.c), que tienden a disminuir en los primeros días de almacenamiento, mientras que  $a^*$  se mantiene prácticamente constante (Figura 3.1.4.d). Sin embargo, a mayor temperatura, se produce un aumento del valor  $a^*$  y un descenso del  $b^*$ , mientras que la luminosidad no varía significativamente durante el periodo de almacenamiento.

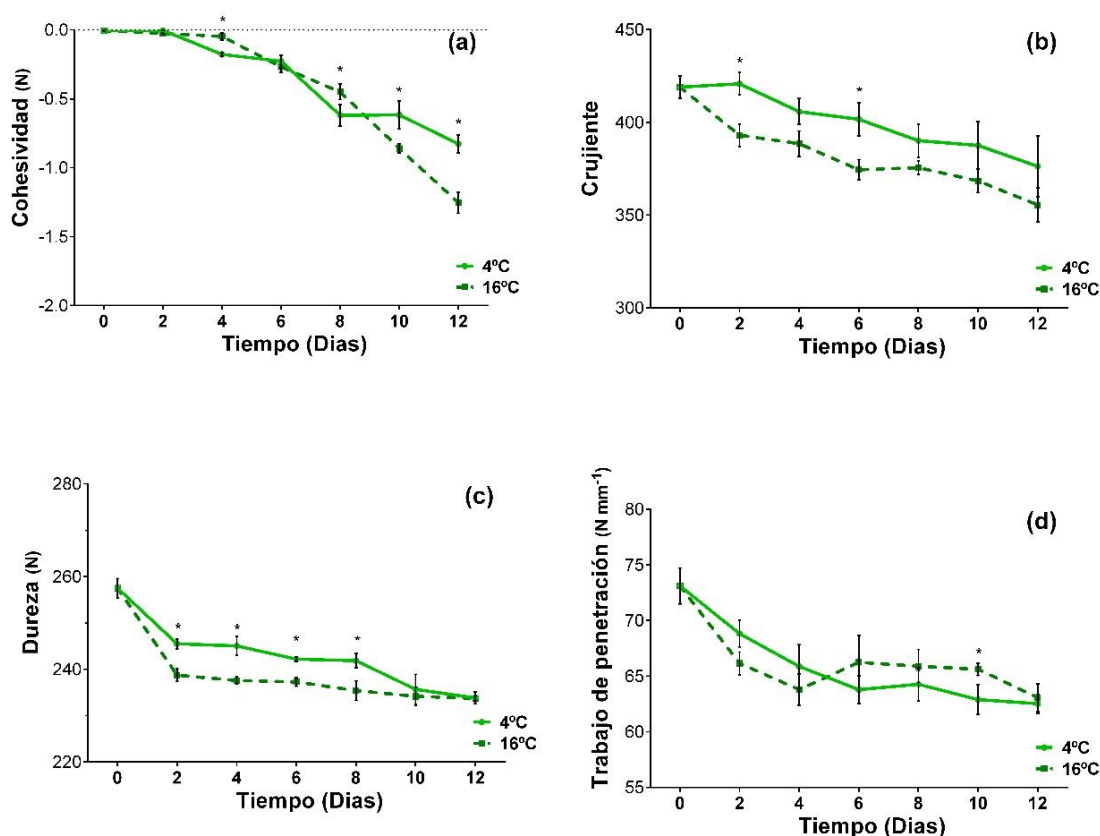


**Figura 3.1.4.** Evolución de los parámetros de color de *U. rigida* durante su conservación a 4 y 16 °C. El \* indica las diferencias significativas entre las distintas temperaturas en el mismo día según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los valores muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

El color verde de *U. rigida*, expresado como  $-a^*/b^*$  (Figura 3.1.4.e), aumenta progresivamente a consecuencia de la disminución de  $b^*$ , es decir, la disminución del color amarillo. A 16 °C, se produce un aumento más rápido del color verde asociado a la rotura del pigmento fucoxantina (Blikra *et al.*, 2018). Posteriormente, a partir del sexto día de almacenamiento, se observa una disminución del color verde que conlleva al pardeamiento del alga. Este color es consecuencia de la formación de compuestos de descomposición de la clorofila e incluso por la propia destrucción del tejido, la alteración

por reacciones enzimáticas y quizás la actividad microbiana, tal y como señalan Blikra *et al.* (2018). Cuando el alga está a 4 °C, la degradación y pérdida de color se produce más tarde, consiguiendo ralentizar los efectos señalados anteriormente. Sin embargo, en ambos casos, a partir del segundo día se empiezan a producir cambios de color que conllevan a una pérdida de calidad del producto.

Atendiendo al análisis de perfil de textura (APT) de *U. rigida* (Figura 3.1.5.), de manera general los valores de cohesividad (a), carácter crujiente (b), dureza (c) y trabajo de penetración (d) se ven afectados por la temperatura y el tiempo de almacenamiento, aumentando con los días y a mayor temperatura. La pérdida de cohesividad, parámetro que determina el grado de compresión de un alimento antes de romperse y, por tanto, si es fracturable, se produce a ambas temperaturas de almacenamiento entre el día 4 y 6. Siendo a partir del día 8 cuando se observan las mayores diferencias, ya que ésta disminuye considerablemente en el alga almacenada a 16 °C.



**Figura 3.1.5.** Evolución de los parámetros de textura de *U. rigida* durante su conservación a 4 y 16 °C. N, unidades de fuerza Newton. El \* indica las diferencias significativas entre las distintas temperaturas en el mismo día según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los valores muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

La degradación de la estructura celular, como consecuencia de reacciones químicas, enzimáticas e incluso por la actividad microbiana, hace que el tejido se vuelva más frágil y, por tanto, fracturable. Igualmente, se produce una pérdida del carácter crujiente, dureza y trabajo de penetración del alga refrigerada a ambas temperaturas y, aunque dicha pérdida es mayor a 16 °C, las diferencias no son significativas. La pérdida de dureza (Figura 3.1.5.c), que se produce a partir del segundo día de almacenamiento, indicando una disminución de la resistencia del alga a la compresión, posiblemente está relacionada con la apariencia marchita que se observa en el alga. En las células de las plantas, la presión de turgencia es la responsable de su carácter crujiente, y junto a la pared celular y los polisacáridos adyacentes, contribuyen a la textura de los vegetales (Waldron *et al.*, 2003). La pérdida de agua afecta a los polisacáridos de la pared celular haciendo que ésta se rompa y se reduzca la adhesión celular, resultando una textura blanda y marchita, tal y como ocurre en los vegetales y otras especies de algas (Nayyar y Skonberg, 2018). El reblandecimiento de la textura conlleva a su vez una disminución del trabajo de penetración, parámetro que indica consistencia o firmeza y que sirve para simular una mordida. Dicho parámetro disminuye considerablemente entre los dos primeros días de almacenamiento, como se puede observar en la Figura 3.1.5.d.

Por tanto, el APT muestra que se producen cambios en la textura de *U. rigida* en los primeros días de almacenamiento y esto se va a ver reflejado en su perfil sensorial y pérdida de calidad.

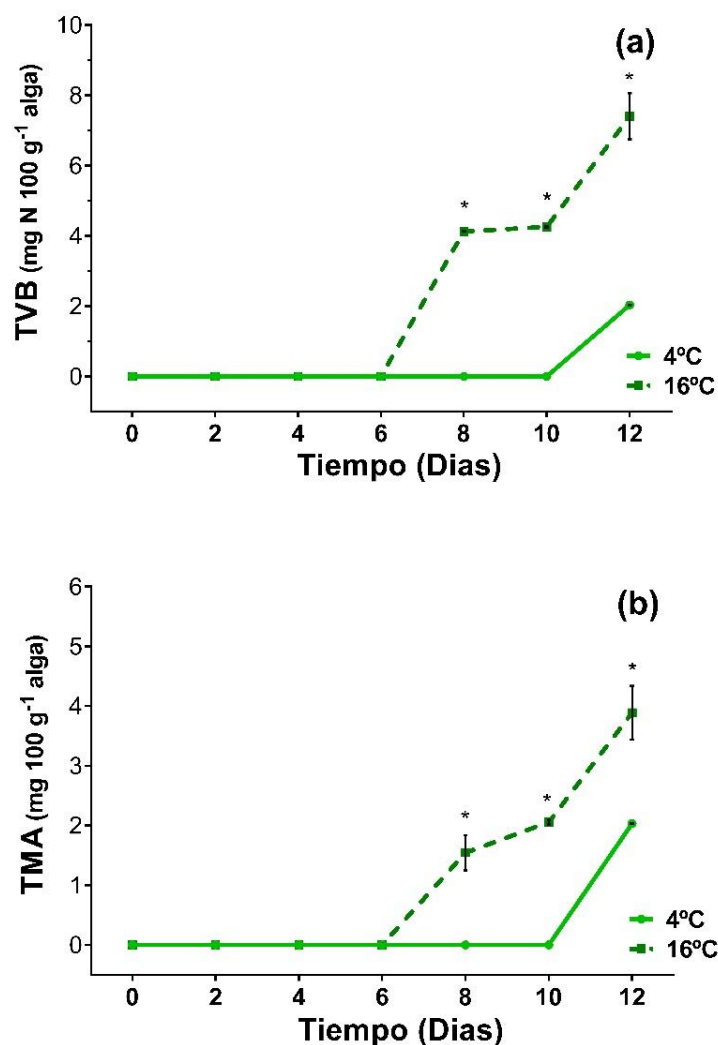
### 3.1.4.2. Análisis químicos

El contenido en bases volátiles totales (BVT) es una de las determinaciones más empleadas para evaluar la frescura o calidad del pescado y otras especies marinas. Tanto la actividad bacteriana, como las modificaciones bioquímicas fruto de la actividad autolítica del pescado dan lugar a una serie de compuestos nitrogenados básicos como el amoníaco, la trimetilamina (expresado como nitrógeno de trimetilamina, N-TMA), la dimetilamina (expresado como nitrógeno de dimetilamina, N-DMA) y la monometilamina, conocidas en su conjunto como nitrógeno básico volátil total (N-BVT), a los que se les considera representativos de esta alteración (Holligworth *et al.*, 1990; Huidobro y Tejada, 1990).

La determinación de N-BVT presenta una elevada correlación con el grado organoléptico de aceptación del pescado y se aplica en ensayos de rutina debido a que puede ser un método relativamente sencillo de aplicar (Connell, 1978). Sin embargo, no todas las especies marinas producen bases volátiles, y en ocasiones no existe una correlación clara entre el contenido en éstas y su almacenamiento. No obstante, los valores altos en BVT se relacionan directamente con un estado avanzado de descomposición. El N-TMA es el componente mayoritario de la fracción de N-BVT, compuesto originado por la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina (OTMA), considerado el responsable del característico “olor desagradable” del pescado (Pons, 1995). El OTMA es un osmolito que se ha relacionado siempre con el pescado, pero en los últimos años se ha demostrado que también se encuentra en otros organismos marinos como las algas y el zooplancton e incluso en el agua de mar, con niveles desde 1,65 nM hasta 76,9 nM, alcanzando las mayores concentraciones en aguas superficiales (Gibb y Atton, 2004).

Como se puede observar en la Figura 3.1.6., tanto la TMA como las BVT en *U. rigida*, se muestran a partir del día 6 cuando el alga se almacena a 16 °C y del día 10 en las almacenadas a 4 °C. A temperaturas bajas, los niveles alcanzados tanto para TMA como para BVT son de 2 mg 100 g<sup>-1</sup>, luego parece que la TMA parece ser el principal componente y único de las BVT.

Cuando el alga se almacena a 16 °C, los niveles de TMA a los doce días de almacenamiento alcanzan los 4 mg TMA 100g<sup>-1</sup> mientras que los de BVT llegan hasta los 7 mg BVT 100 g<sup>-1</sup>. En este caso los valores más altos de bases volátiles con respecto a la trimetilamina indican una hidrólisis de proteínas y aparición de otras aminas a partir de OTMA, bien por actividad microbiana o por actividad enzimática endógena del alga en condiciones limitantes de oxígeno. Según el Reglamento (CE) nº 1022, (2008), el límite máximo de bases volátiles totales para el consumo de productos pesqueros no transformados está entre 25 y 35 mg 100 g<sup>-1</sup>, luego los niveles encontrados en *U. rigida* están muy por debajo de dichos límites. Sin embargo, dichos niveles son indicativos de un estado avanzado de deterioro y pérdida de frescura, aspecto a tener en cuenta a la hora de establecer la vida útil de esta especie.



**Figura 3.1.6.** Evolución de las bases volátiles totales (BVT) y trimetilamina (TMA) en *U. rigida* durante su conservación a 4 y 16 °C. El \* indica las diferencias significativas entre las distintas temperaturas el mismo día según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los valores muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

Además de las bases volátiles y la trimetilamina otro de los parámetros que podría ser útil para determinar la pérdida de calidad de las algas serían los pigmentos. La cantidad de pigmentos presentes en vegetales está asociada a las variaciones de color (Taoukis *et al.*, 2000), luego en el caso de las algas se esperaría la misma relación. En la Tabla 3.1.2. se recogen los resultados obtenidos en la determinación de pigmentos de *U. rigida* durante su almacenamiento. Como se puede observar, tanto las clorofilas (a y b) como los carotenos muestran una gran variabilidad no mostrando una tendencia clara durante el almacenamiento ni relación directa con el color y su evolución.

**Tabla 3.1.2.** Contenido en pigmentos de *U. rigida* durante su conservación a 4 y 16 °C. Los valores

$\mu\text{g g}^{-1}$ PS	Cla		Cib		Carotenos	
	4 °C	16 °C	4 °C	16 °C	4 °C	16 °C
Día 0	15,4±0,27		12,05±0,05		1,46±0,07	
Día 2	13,4±0,10	10,66±0,11	11,61±0,09	8,32±0,04	1,26±0,05	0,98±0,06
Día 4	7,46±0,08	14,27±0,09	6,45±0,06	10,85±0,06	0,72±0,06	1,42±0,06
Día 6	12,97±0,12	16,46±0,10	9,46±0,07	12,10±0,11	1,32±0,06	1,67±0,07
Día 8	6,99±0,10	7,34±0,07	5,61±0,08	5,42±0,06	0,72±0,07	0,88±0,05
Día 10	6,45±0,06	8,20±0,05	6,33±0,05	7,95±0,08	1,75±0,10	0,91±0,07
Día 12	16,25±0,06	12,58±0,09	11,71±0,07	10,65±0,07	1,75±0,08	0,89±0,04

muestran valores medios (n = 3) con SD.

La variabilidad que sufren durante el almacenamiento tanto las clorofilas a y b como los carotenos indica la influencia de distintos factores sobre los mismos. Por una parte, se puede producir una pérdida de pigmentos por actividad enzimática tipo polifenoloxidasas, causante de la oxidación de los polifenoles, carotenoides, etc., dando lugar a compuestos más complejos responsables de una pigmentación más parda o amarronada (Gasull y Becerra, 2006). Por otra parte, la actividad enzimática de tipo hidrolítico degrada de las paredes celulares liberando los pigmentos contenidos en el interior celular (Renovato *et al.*, 1995). Además, según Bustamante, (2009), durante el deterioro, muchas especies sintetizan nuevos carotenoides y otros pigmentos de origen fenilpropanoide (antocianinas y flavonoides) que confieren nuevos colores a las hojas y a los frutos maduros antes de la abscisión. Estos fenómenos junto con la metodología empleada en la extracción y análisis de pigmentos y las condiciones del tejido del alga durante su almacenamiento, condicionan los resultados y, por tanto, limita su uso como parámetro de control de calidad y pérdida de frescura de *U. rigida*.

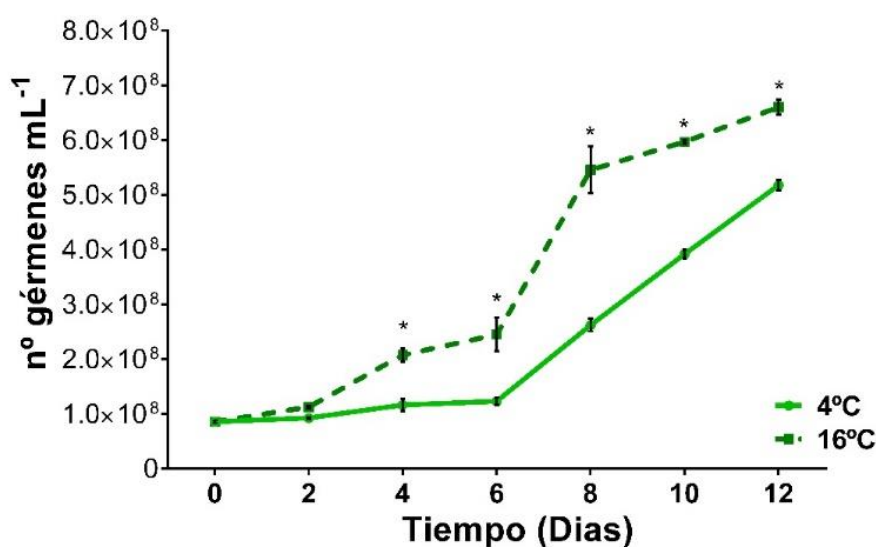
### 3.1.4.3. Análisis microbiológico

La industria alimentaria y las autoridades sanitarias utilizan diversos tipos de ensayos microbiológicos para comprobar que el nivel microbiológico del pescado y otros productos marinos es satisfactorio. La finalidad de estos exámenes es detectar bacterias patógenas (*Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*), organismos indicadores de contaminación fecal (*E. coli*) u otros tipos de contaminación general o prácticas de elaboración deficientes (bacterias coliformes, estreptococos fecales, etc.).



Asimismo, durante el almacenamiento del producto fresco se produce la proliferación de bacterias específicas del deterioro. Dichas bacterias reducen la vida útil del producto, llegando a causar graves problemas comerciales, pero sin llegar a poner vidas en peligro (Huss, 1999). Además, el crecimiento microbiano en los alimentos durante el almacenamiento depende de varios factores intrínsecos como la composición y el contenido en agua del producto, pH, estructura biológica y potencial redox (Kodaira, 1991) y factores extrínsecos como la temperatura, tiempo de almacenamiento, humedad relativa del ambiente, composición de la atmósfera o método de conservación (García *et al.*, 2014; Henshaw *et al.*, 2000; Vega-Gálvez *et al.*, 2010). En general, los ensayos microbiológicos son costosos, llevan mucho tiempo y requieren mucho trabajo manual, lo que hace necesaria la búsqueda de nuevas metodologías para llevar a cabo estos análisis. En este trabajo se plantea el recuento de gérmenes por microscopía óptica del líquido de exudado como método rápido y aproximado de control microbiológico de los microorganismos responsables de la pérdida de frescura de *U. rigida*.

En la Figura 3.1.7., se recogen los resultados del análisis microbiológico realizado en *U. rigida* durante su almacenamiento a 4 y 16 °C. Como se puede observar, a pesar de los lavados y tratamientos de higienización realizados al alga antes de su envasado, el número de gérmenes es elevado desde el inicio, llegando a los  $8,5 \cdot 10^7$  gérmenes  $\text{mL}^{-1}$ .



**Figura 3.1.7.** Evolución del número de gérmenes en *U. rigida* durante su conservación a 4 y 16 °C. El \* indica las diferencias significativas entre las distintas temperaturas en el mismo día según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los valores muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD.

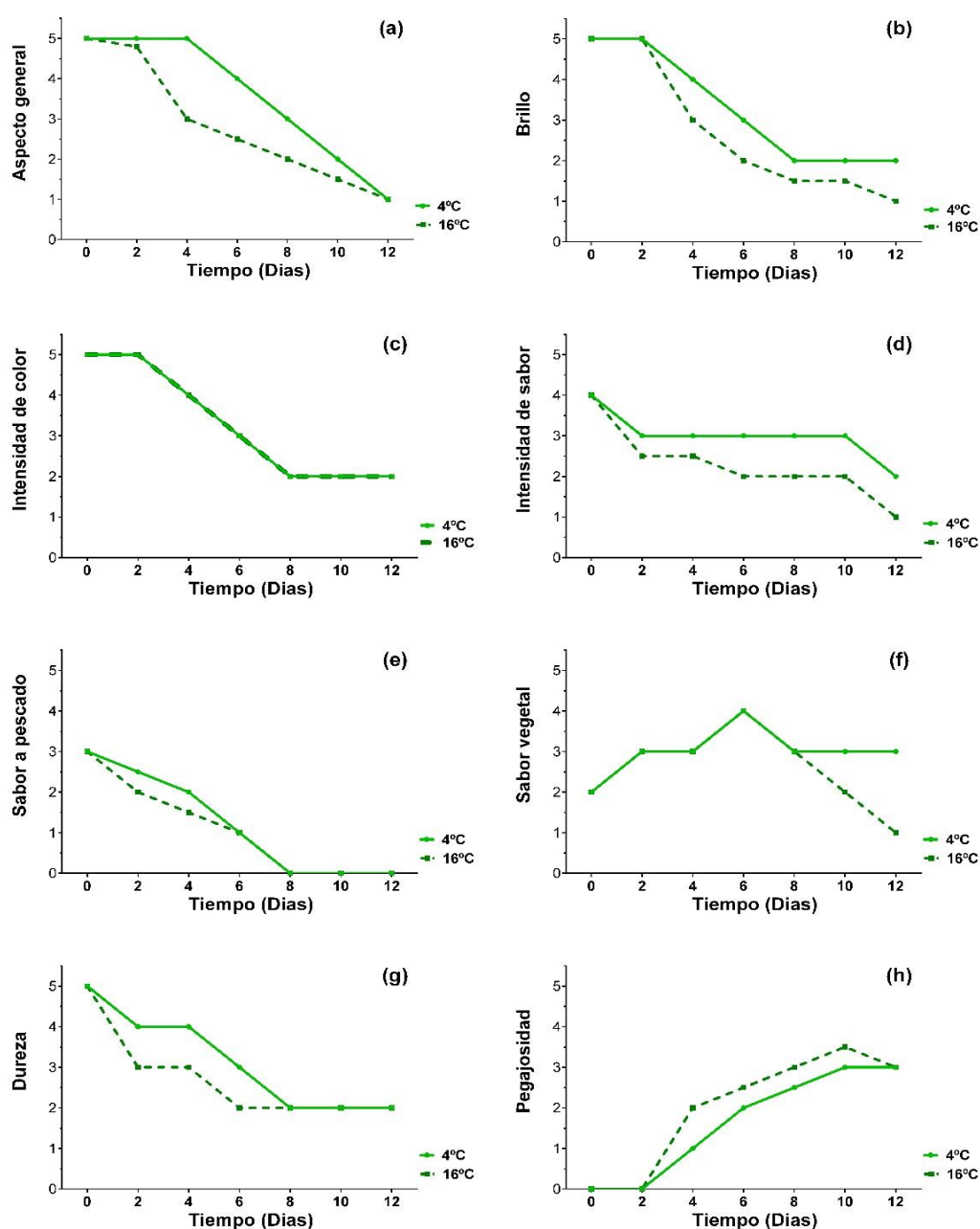
Con el transcurso de los días, este número aumenta significativamente, siendo más acusado en el caso de las algas almacenadas a 16 °C. Así, mientras que a 4 °C, el mayor incremento se produce a partir del día 6, a 16 °C se observa ya un incremento a partir del segundo día, alcanzando niveles finales de  $5,2 \cdot 10^8$  y  $6,6 \cdot 10^8$  gérmenes  $\text{mL}^{-1}$  para cada temperatura, respectivamente. Comparando los parámetros físicos y químicos analizados anteriormente con el resultado obtenido en el análisis microbiológico, queda claro que el crecimiento microbiano no es la principal causa de pérdida de calidad de *U. rigida* durante su almacenamiento como ocurre con otras especies (Paull y Chen, 2008). A 4 °C, se produce un mayor incremento a los seis días de almacenamiento, mientras que a 16 °C esto ocurre de manera más progresiva a partir del segundo día.

Atendiendo a los parámetros de BVT, TMA, (Figura 3.1.6. a y b) y pH (Figura 3.1.3.a), relacionados con la actividad microbiana causante de la alteración y el deterioro, a 4 °C, hasta los diez días no se produce un aumento de BVT y TMA, con el consecuente aumento del pH debido al aumento de los compuestos básicos. A 16 °C, en cambio, este aumento de BVT y TMA se produce a partir del sexto día, pero no se traduce en un aumento del pH sino en una disminución. Estos resultados indican que el deterioro microbiano y formación de aminas y bases volátiles comienza cuando la población alcanza un determinado nivel,  $4,0 \cdot 10^8$  y  $2,5 \cdot 10^8$  gérmenes  $\text{mL}^{-1}$ , para 4 y 16 °C respectivamente. Sin embargo, los microorganismos responsables de dicho deterioro no son los mismos. A 4 °C, las condiciones de temperatura favorecen la acidificación del medio y una ligera disminución de la  $a_w$  (Figura 3.1.3. a y b) permitiendo el crecimiento de bacterias reductoras de OTMA y degradación de proteínas en los últimos días de conservación, la cual conlleva a la generación de TMA, BVT y el aumento del pH. Sin embargo, a 16 °C se alcanzan pH altos y  $a_w$  prácticamente constante inicialmente, favoreciendo el desarrollo microbiano de distinto tipo. En los últimos días predominan aquellas poblaciones bacterianas causantes de la bajada de pH frente a las responsables de la formación de BVT.

Según estos resultados, aunque la determinación por recuento del nº de gérmenes  $\text{mL}^{-1}$  no indica las especies que actúan sobre *U. rigida* durante su almacenamiento, puede resultar un método aproximado y rápido para determinar el inicio de los síntomas de alteración y degradación que sufre el alga y su posible evolución.

### 3.1.4.4. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo

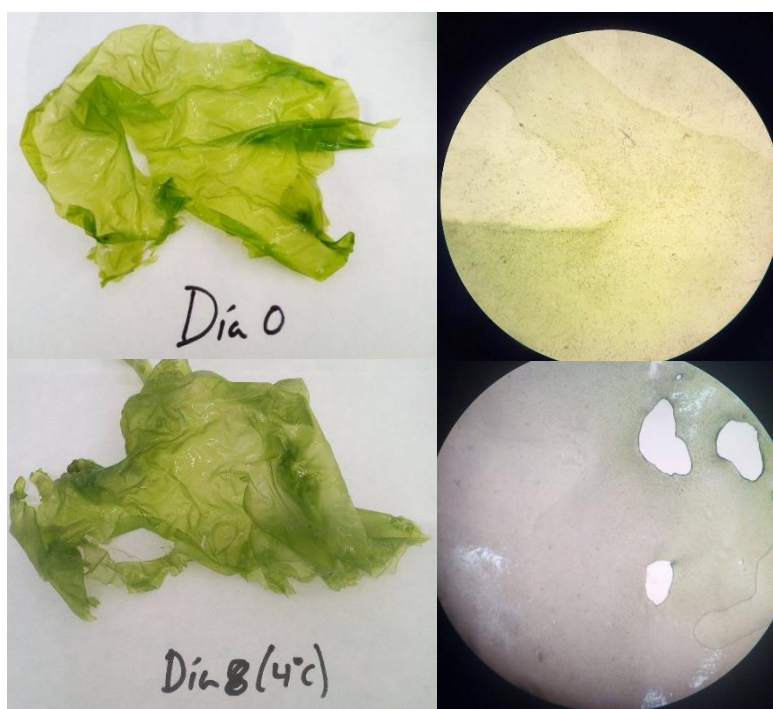
Como se puede observar en la figura 3.1.8.a, las valoraciones del aspecto general de *U. rigida* van disminuyendo a medida que pasa el tiempo, siendo más rápido y acusado a mayor temperatura. Esta evolución del aspecto en el examen visual está relacionada con una disminución en la intensidad de color del alga, que se produce por igual a ambas temperaturas (Figura 3.1.8.c), y la pérdida de brillo (Figura 3.1.8.b) que se produce con mayor intensidad a 16 °C.



**Figura 3.1.8.** Evolución de la apariencia, sabor y tacto de *U. rigida* almacenada a 4 y 16 °C. Resultados obtenidos a partir de la ficha de cata elaborada para evaluar las características organolépticas del alga, con puntuaciones de 0 a 5, como escala de intensidad.

Los cambios tienen lugar para ambas temperaturas de conservación a partir del segundo día, pero a 4 °C el aspecto general se conserva durante más tiempo. A partir del día 8 las valoraciones están por debajo de 3 y una de las características más destacada de su deterioro es la pérdida de uniformidad de color y la presencia de oquedades en las hojas cuando se observa con lupa, aumentando el número de éstas a lo largo del tiempo (Figura 3.1.9.).

El color y su uniformidad son dos de las principales características que determinan la calidad de un fruto u hortaliza y se utiliza frecuentemente como su índice de frescura, palatabilidad y valor nutricional relacionándose con la intensidad del sabor y la dulzura (Mercado-Silva y Aquino-Bolaños, 2005). El color verde intenso y, sobre todo el brillo, son dos de las principales características de *Ulva* durante su examen visual. La pérdida de brillo se produce de manera progresiva desde los primeros días de almacenamiento siendo ésta de mayor intensidad cuando el alga se conserva a 16 °C. Se ha demostrado que la disminución del brillo en frutas y vegetales indica que se ha desarrollado demasiado, alterándose y perdiendo parte de sus características de color, sabor y textura (Bracket, 1998; Cantwell, 1999), evolución observada también en *U. rigida* y que puede favorecerse por la pérdida de agua por exudado (Figura 3.1.3.c).



**Figura 3.1.9.** Evolución del aspecto visual de *U. rigida* durante su almacenamiento.

Al igual que la intensidad de color, la intensidad de sabor (Figura 3.1.8.d) también se va perdiendo durante el almacenamiento, siendo mayor esta pérdida a mayor temperatura. Los sabores característicos de esta especie son a pescado (Figura 3.1.8.e) y ligeramente vegetal (Figura 3.1.8.f). Ambos sabores y su intensidad se modifican durante la conservación a las temperaturas de estudio con ligeras diferencias entre ellos. El sabor a pescado disminuye ligeramente hasta llegar a desaparecer a partir del día 8, mientras que paralelamente se incrementa el sabor vegetal el cual a partir del día 6 comienza a disminuir de manera más importante a alta temperatura.

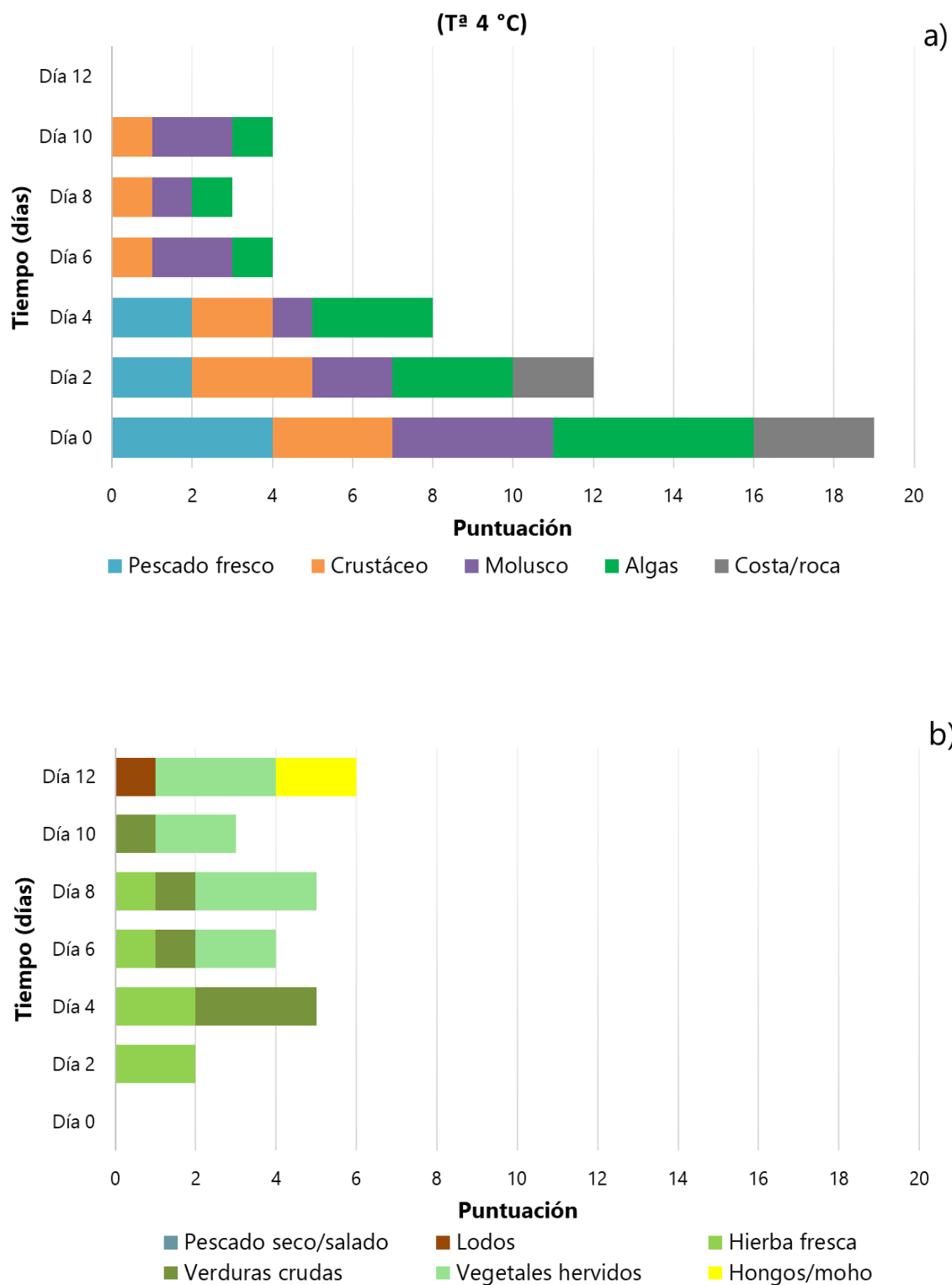
Atendiendo a algunos descriptores relacionados con el tacto, tanto la dureza como la pegajosidad (Figura 3.1.8.g y h, respectivamente) presentan la evolución típica de la disminución de frescura en el tiempo de otro tipo de alimentos como las verduras, frutas y hortalizas y los productos marinos. La textura de las algas y su flexibilidad o rigidez (dureza) podría explicarse por el hecho de que las paredes celulares de las algas marinas contienen polisacáridos de cadena larga, lo que les da flexibilidad y les permite adaptarse a la variedad de movimientos de las aguas en las que crecen (FAO, 2002). La dureza propia de *U. rigida*, considerada máxima al inicio del seguimiento, disminuye progresivamente desde el primer día, siendo más intensa la conservada a altas temperaturas, aunque a partir del día 8 no se producen diferencias significativas entre ambas temperaturas. La pegajosidad, por el contrario, aumenta a lo largo del periodo de conservación a partir del día 2 para ambas temperaturas, aunque nuevamente el efecto es mayor en el alga almacenada a 16 °C. La degradación de paredes celulares, por actividad enzimática y microbiológica, así como de los distintos componentes de las algas y la liberación de agua durante el deterioro, conlleva a una pérdida de textura reflejada a nivel sensorial en un mayor ablandamiento y aumento de la pegajosidad.

La evaluación del aroma indica claramente diferentes efectos de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre *U. rigida* (Figura 3.1.10. y Figura 3.1.11.). A tiempo cero, *U. rigida* presenta solo aromas identificados como positivos y que recuerdan al mar y a productos marinos tales como aroma a pescado, crustáceos, moluscos, algas y costa/roca y ningún aroma considerado como negativo por el panel de catadores. A medida que pasa el tiempo en ambas temperaturas de conservación, se produce una disminución de la intensidad aromática en general. Algunos de los aromas característicos positivos del alga se van perdiendo, dando lugar a la aparición de otros, tanto positivos como

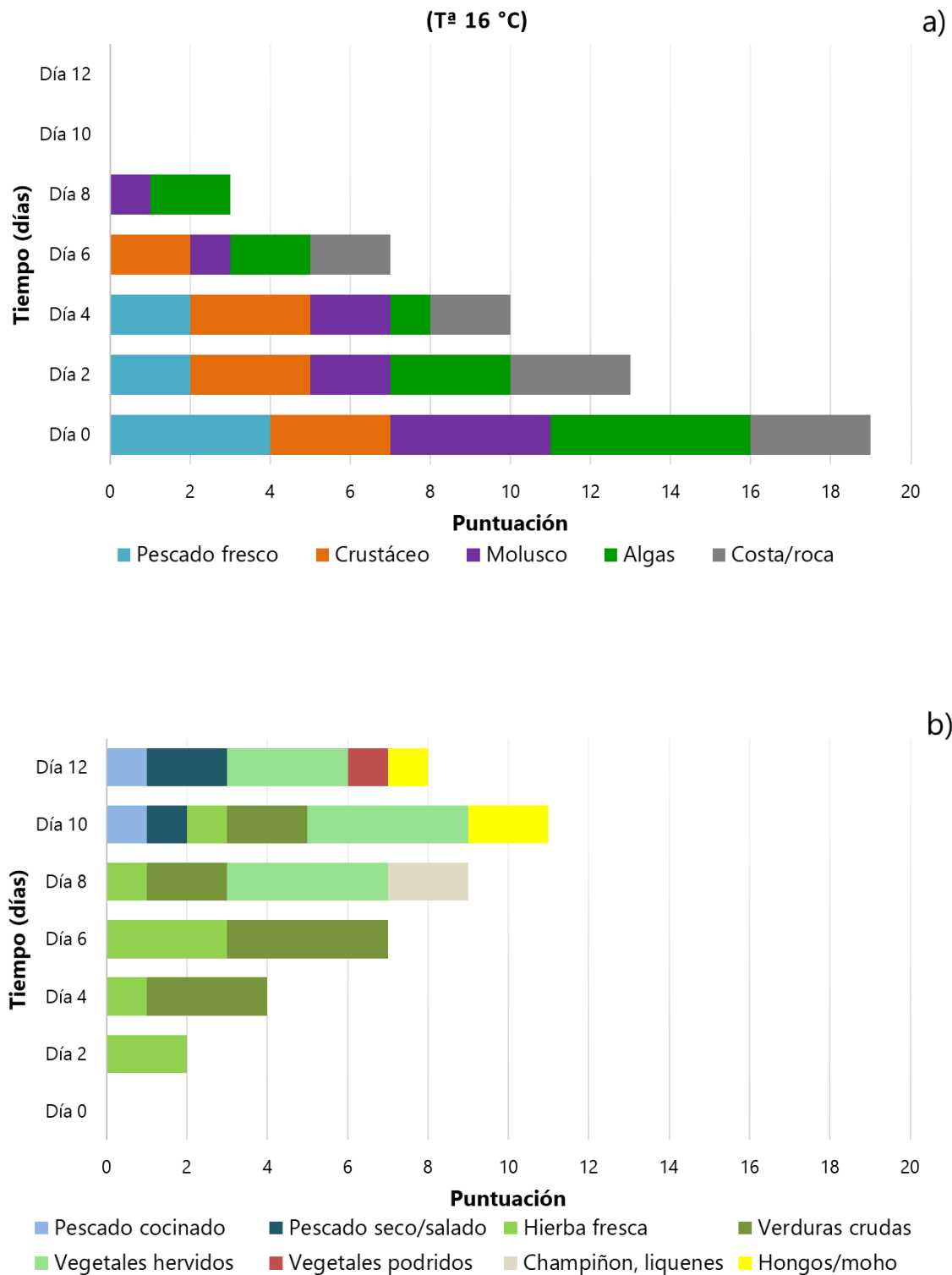
negativos. Sin embargo, la pérdida o generación de aromas y, por tanto, la evolución del aroma en el tiempo depende de la temperatura. Así, a 4 °C, los aromas característicos de *U. rigida* (Figura 3.1.10.) se mantienen durante los primeros 4 días, aunque disminuye su intensidad progresivamente. El aroma a pescado y a costa/roca desaparecen a partir de los días 6 y 8, respectivamente, y en el día 10 desaparecen los aromas característicos de calidad y frescura del alga (Figura 3.1.10.a). Paralelamente a la pérdida y disminución de intensidad de los aromas positivos, a partir del segundo día, se muestran aromas considerados como negativos (Figura 3.1.10.b), empezando los primeros días por aromas a hierba fresca y verduras crudas que, aunque no son desagradables, ya indican un cambio importante con respecto a las características del alga fresca. A partir del día 8 aparecen los aromas a vegetales hervidos para dar lugar en los últimos días a los aromas a hongos/moho e incluso lodos, indicativos todos de un deterioro, como consecuencia de una mayor actividad microbiana.

A 16 °C, los aromas característicos de *U. rigida* (Figura 3.1.11.a) se mantienen durante los 2 primeros días, pero disminuyen su intensidad considerablemente. A partir del día 4 ya no se detecta el aroma a costa/roca y en los días siguientes desaparece el aroma a crustáceo y a partir del día 10 no se detecta ningún aroma característico del alga. La aparición de aromas considerados como negativos (Figura 3.1.11.b) comienza el día 2 con el aroma a hierba fresca y en los días siguientes aparecen los aromas a verdura cruda, vegetales cocidos y champiñones. Entre los días 10 y 12, últimos días de almacenamiento, empiezan a generarse los aromas a pescado cocinado y seco/salado, además de hongos/moho e incluso a vegetales podridos que deterioran el alga, debido a una mayor actividad microbiana como se ha indicado el caso anterior.

El análisis sensorial indica que, aunque los signos de alteración y deterioro no comienzan a producirse hasta los 8-10 días de conservación (a 4-16 °C), la pérdida de frescura y calidad del alga bajo las condiciones estudiadas se produce desde los primeros días de almacenamiento. Sus características sensoriales son las que evolucionan más rápidamente, tanto por actividad enzimática como microbiana. Dichos resultados y los obtenidos en los análisis fisicoquímicos, la vida útil de *U. rigida* podría establecerse en una semana almacenada a 4 °C. Sin embargo, las modificaciones sensoriales que sufre el alga van a condicionar su uso acortándose este periodo para determinadas aplicaciones, sobre todo, culinarias.



**Figura 3.1.10.** Evolución de los descriptores aromáticos positivos a pescado fresco, crustáceo, molusco, algas y costa/roca (a) y descriptores aromáticos negativos a pescado seco/salado, lodos, hierba fresca, verduras crudas, vegetales hervidos y hongos/moho (b) de *U. rigida* almacenada a 4 °C.



**Figura 3.1.11.** Evolución de los descriptores aromáticos positivos a pescado fresco, crustáceo, molusco, algas y costa/roca (a) y descriptores aromáticos negativos a pescado cocinado, pescado seco/salado, hierba fresca, verduras crudas, vegetales hervidos, vegetales podridos, champiñón/líquenes y hongos/moho (b) de *U. rigida* almacenada a 16 °C.



### 3.1.5. Conclusiones

Los parámetros físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales utilizados en este estudio indican una pérdida de calidad y frescura del alga a lo largo del tiempo, así como los primeros síntomas de deterioro. Bajo las condiciones de almacenamiento estudiadas, la calidad de *U. rigida* se mantuvo mejor a 4 °C que a 16 °C, ralentizando tanto la actividad enzimática como la microbiana responsable del deterioro. El pH, el porcentaje de exudado, así como los cambios de color y textura indican una pérdida de calidad del alga correlacionada con el aumento de gérmenes y el análisis sensorial. Sin embargo, las BVT y la TMA, son parámetros químicos útiles para determinar la degradación del alga por actividad microbiana y responsables de las características sensoriales de deterioro durante el almacenamiento, así como de la variación del pH. Además, se ha comprobado que, aunque el recuento de gérmenes no indica el tipo de microorganismo causante de la alteración que se desarrolla en el medio, es un parámetro rápido y sencillo para determinar la carga microbiana y su posible efecto sobre el alga. La  $a_w$  y los pigmentos, sin embargo, no resultan parámetros útiles para determinar la pérdida de calidad y frescura del alga estudiada. A partir de los resultados obtenidos se puede establecer la vida útil de *U. rigida* almacenada a 4 °C en una semana. Sin embargo, a los 7 días ya se observan algunas modificaciones en sus características físicas y principalmente sensoriales que pueden condicionar su empleo, por ejemplo, para aplicaciones culinarias o desarrollo de productos a partir de alga fresca. En resumen, este estudio proporciona información útil acerca de los cambios en la calidad y frescura de *U. rigida* durante su almacenamiento en refrigeración y de los métodos más adecuados para su determinación y establecimiento de su vida útil.

### 3.1.6. Bibliografía

- Alasalvar, C., Taylor, K.D.A., Öksüz, A., Garthwaite, T., Alexis, M.N., Grigorakis, K., 2001. Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chem.* 72, 33–40. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00196-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00196-5)
- Armenta, S., Coelho, N.M.M., Roda, R., Garrigues, S., de la Guardia, M., 2006. Seafood freshness determination through vapour phase Fourier transform infrared spectroscopy. *Anal. Chim. Acta* 580, 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.07.070>
- Barat, J.M., Gallart-Jornet, L., Andrés, A., Akse, L., Carlehög, M., Skjerdal, O.T., 2006. Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *J. Food Eng.* 73, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.023>
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., 2002. Transpiration y water stress, in: *Postharvest physiology and pathology of vegetables*. 111–159. <https://doi.org/10.1201/9780203910092.ch5>
- Blikra, M., Løvdal, T., Vaka, M.R., Roiha, I.S., Lunestad, B.T., Lindseth, C., Skipnes, D., 2018. Assessment of food quality and microbial safety of brown macroalgae (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*). *J. Sci. Food Agric.* 0–2. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9289>
- Bracket, R.E., 1998. Safe handling of fruits and vegetables. Fresh-cut products: maintaining quality and safety. *Postharvest Hortic.* Ser. 10.
- Bustamante, 2009. Caracterización de la actividad  $\beta$ -xilosidasa en frutos climatéricos y no-climatéricos. Análisis de su expresión y regulación hormonal. *Inst. Investig. Biotecnológicas*.
- Büyükcın, M., Bozoglu, F., Alpas, H., 2009. Preservation and shelf-life extension of shrimps and clams by high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 1495–1502. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01628.x>
- Cabello, A., Lezama, R., García, B., Marcano, B., Figueroa, M., González, O., 2004. Parámetros de frescura de moluscos. *Rev. científica Univ. del Zulia, Maricao, Venez.* XIV, 457–466.
- Cantwell, M., 1999. Características y recomendaciones para el almacenamiento de frutas y hortalizas. University of California, Davis. <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Storage/spana.html>
- Cardoso, S., Pereira, O., Seca, A., Pinto, D., Silva, A., 2015. Seaweeds as preventive agents for cardiovascular diseases: from nutrients to functional foods. *Mar. Drugs* 13, 6838–6865. <https://doi.org/10.3390/md13116838>
- Cian, R.E., Drago, S.R., De Medina, F.S., Martínez-Augustin, O., 2015. Proteins and carbohydrates from red seaweeds: Evidence for beneficial effects on gut function and microbiota. *Mar. Drugs* 13, 5358–5383. <https://doi.org/10.3390/md13085358>
- Connell, J., 1978. *Control de la calidad del pescado*. Zaragoza.
- Fernández-Segovia, I., Lerma-García, M.J., Fuentes, A., Barat, J.M., 2018. Characterization of Spanish powdered seaweeds: Composition, antioxidant capacity and technological properties. *Food Res. Int.* 111, 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.037>
- Fernández, J., 2006. *Bases de la conservación de alimentos*. Universidad de Almería.
- Ferraces-Casais, P., Lage-Yusty, M.A., Rodríguez-Bernaldo De Quirós, A., López-Hernández, J., 2013. Rapid identification of volatile compounds in fresh seaweed. *Talanta* 115, 798–800. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.049>
- García, M., Casariego, A., Díaz, R., Roblejo, L., 2014. Effect of edible chitosan/zeolite coating on tomatoes quality during refrigerated storage. *Emirates J. Food Agric.* 26, 238–246. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i3.16620>

- Gasull, E., Becerra, D., 2006. Caracterización de polifenoloxidasa extraída de pera (cv. Packam's Triumph) y manzana (cv. Red Delicious). *Inf. Tecnológica* 17, 69–74.
- Gupta, S., Cox, S., Abu-Ghannam, N., 2011. Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 1266–1272. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.022>
- Henshaw, F.O., Uzochukwu, S.V.A., Bello, I.Y., 2000. Sensory properties of akara (fried cowpea paste) prepared from paste stored at low storage temperatures. *Int. J. Food Prop.* 3, 295–304. <https://doi.org/10.1080/10942910009524635>
- Holligworth, A.T., Marleen, J.R., Wekell, M., Sullivan, J., Torkelson, J.D., Throm, H.R., 1990. Chemical indicators of decomposition for raw surimi and flaked artificial crab. *J. Food Sci.* 55, 349–352. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06760.x>
- Huidobro, A., Tejada, M., 1990. Determinación analítica de los compuestos nitrogenados no proteicos en el músculo de pescado. Aplicación al control de calidad. *Rev. Agroquímica Tecnol. Aliment.* 30, 293–302.
- Huss, H.H., 1999. *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. FAO, Roma.
- Jay, J., 2000. *Microbiología moderna de los alimentos*. Zaragoza.
- Jiménez-Colmenero, F., 2007. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 567–578. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.05.006>
- Kumar, P., Ramakritinan, C.M., Kumaraguru, A.K., 2010. Solvent extraction and spectrophotometric determination of pigments of some algal species from the shore of puthumadam, southeast coast of India. *Int. J. Ocean. Oceanogr.* 4, 29–34. [https://doi.org/10.1016/S0003-3928\(04\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3928(04)00041-1)
- Lauro, A., 1980. Estudio de conservación por congelación del mejillón *Perna perna* por desintegrado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- López-Pérez, O., Picon, A., Nuñez, M., 2017. Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehydrated edible seaweeds. *Food Res. Int.* 99, 1002–1010. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.013>
- Mercado-Silva, E., Aquino-Bolaños, E.N., 2005. Enzimas involucradas en el deterioro, in: *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Frescos Cortados*. CIAD AC, Hermosillo, Sonora, p. 558.
- Mesnildrey, L., Céline, J., Frangoudes, K., Reunavot, M., Lesueur, M., 2013. *Seaweed industry in France*. Netalgae Project.
- Moore, J.E., Xu, J., Millar, B.C., 2002. Diversity of the microflora of edible macroalga (*Palmaria palmata*). *Food Microbiol.* 19, 249–257. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0467>
- Mworia, E.G., Yoshikawa, T., Yokotani, N., Fukuda, T., Suezawa, K., Ushijima, K., Nakano, R., Kubo, Y., 2010. Characterization of ethylene biosynthesis and its regulation during fruit ripening in kiwifruit, *Actinidia chinensis* "Sanuki Gold." *Postharvest Biol. Technol.* 55, 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.08.007>
- Nayyar, D., Skonberg, D.I., 2018. Contrasting effects of two storage temperatures on the microbial, physicochemical, and sensory properties of two fresh red seaweeds, *Palmaria palmata* and *Gracilaria tikvahiae*. *J. Appl. Phycol.* 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1545-8>

- Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I.M., Henahan, G., Nielsen, J., Nilsen, H., 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends Food Sci. Technol.* 8, 258–265.
- Pacquit, A., Lau, K.T., McLaughlin, H., Frisby, J., Quilty, B., Diamond, D., 2006. Development of a volatile amine sensor for the monitoring of fish spoilage. *Talanta* 69, 515–520. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.10.046>
- Pascual Anderson, M.R., Calderón y Pascual, V., 2000. *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebida*, Ediciones. ed.
- Paull, R.E., Chen, N.J., 2008. Postharvest handling and storage of the edible red seaweed *Gracilaria*. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 302–308.
- Peinado, I., Girón, J., Koutsidis, G., Ames, J.M.M., 2014. Chemical composition, antioxidant activity and sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds. *Food Res. Int.* 66, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.035>
- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Vergara, J.J., Brun, F.G., León, Á., 2018. *Those curious and delicious seaweeds: A fascinating voyage from biology to gastronomy*. UCA Press.
- Poojary, M.M., Barba, F.J., Aliakbarian, B., Donsì, F., Pataro, G., Dias, D.A., Juliano, P., 2016. Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Mar. Drugs* 14, 1–34. <https://doi.org/10.3390/md14110214>
- Reglamento (CE) No 1022/2008. Valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT).
- Renovato, J., Contreras, J.C., Rodriguez, R.M., Renard, C., Montañez, J.C., 1995. Degradación enzimática de paredes vegetales de limón y lima mexicana. Universidad Autónoma de Coahuila. Mexico.
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rioux, L.-E.E., Beaulieu, L., Turgeon, S.L., 2017. Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. *Food Hydrocoll.* 68, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.005>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Siang, M., Kim, L.L., 1992. Determination of trimethylamine oxide, trimethylamine and total volatile basic nitrogen by Conway's micro-diffusion method, in: Miwa, K., Ji, L.S. (Eds.), *Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fisheries products*. Kuala Lumpur. 3.1-3.6.
- Tello-Ireland, C., Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., López, J., Di Scala, K., 2011. Influence of hot-air temperature on drying kinetics, functional properties, colour, phycobiliproteins, antioxidant capacity, texture and agar yield of alga *Gracilaria chilensis*. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 2112–2118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.008>
- Triqui, R., 2006. Sensory and flavor profiles as a means of assessing freshness of hake (*Merluccius merluccius*) during ice storage. *Eur. Food Res. Technol.* 222, 41–47. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0078-y>
- UNE-ISO, 2010. Análisis sensorial. Metodología. *Guía para establecer un perfil sensorial*. AENOR.

- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Díaz, L.P., Lopez, L., Rodriguez, K., Scala, K. Di, 2010. Effective moisture diffusivity determination and mathematical modelling of the drying curves of the olive-waste cake. *Bioresour. Technol.* 101, 7265–7270. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.040>
- Waldron, K.W., Parker, M.L., Smith, A.C., 2003. Plant cell walls and food quality. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2, 128–146. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00019.x>
- Yamamoto, M., Baldermann, S., Yoshikawa, K., Fujita, A., Mase, N., Watanabe, N., 2014. Determination of volatile compounds in four commercial samples of japanese green algae using solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry. *Sci. World J.* <https://doi.org/10.1155/2014/289780>
- Yang, S.F., Hoffman, N.E., 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35.

## Índice de figuras

<b>Figura 3.1.1.</b> Proceso de higienización y envasado de las algas .....	105
<b>Figura 3.1.2.</b> Medición de textura en la muestra con una sonda cilíndrica .....	106
<b>Figura 3.1.3.</b> Evolución de los parámetros fisicoquímicos de <i>U. rigida</i> durante su conservación a 4 y 16 °C .....	111
<b>Figura 3.1.4.</b> Evolución de los parámetros de color de <i>U. rigida</i> durante su conservación a 4 y 16 °C .....	114
<b>Figura 3.1.5.</b> Evolución de los parámetros de textura de <i>U. rigida</i> durante su conservación a 4 y 16 °C. N, unidades de fuerza Newton .....	115
<b>Figura 3.1.6.</b> Evolución de las bases volátiles totales (BVT) y trimetilamina (TMA) en <i>U. rigida</i> durante su conservación a 4 y 16 °C .....	118
<b>Figura 3.1.7.</b> Evolución del número de gérmenes en <i>U. rigida</i> durante su conservación a 4 y 16 °C .....	120
<b>Figura 3.1.8.</b> Evolución de la apariencia, sabor y tacto de <i>U. rigida</i> almacenada a 4 y 16 °C ....	122
<b>Figura 3.1.9.</b> Evolución del aspecto visual de <i>U. rigida</i> durante su almacenamiento .....	123
<b>Figura 3.1.10.</b> Evolución de los descriptores aromáticos positivos (a) y descriptores aromáticos negativos (b) de <i>U. rigida</i> almacenada a 4 °C .....	126
<b>Figura 3.1.11.</b> Evolución de los descriptores aromáticos positivos (a) y descriptores aromáticos negativos (b) de <i>U. rigida</i> almacenada a 16 °C .....	127

## Índice de tablas

<b>Tabla 3.1.1.</b> Ficha de análisis sensorial elaborada para la caracterización organoléptica de <i>U. rigida</i> .....	109
<b>Tabla 3.1.2.</b> Contenido en pigmentos de <i>U. rigida</i> durante su conservación a 4 y 16 °C .....	119



## Capítulo 3.2

# Evolución de los compuestos volátiles y características sensoriales en *Ulva rigida* durante su almacenamiento

*Journal of the Science of Food and Agriculture. 99 (12), 5475-5482*

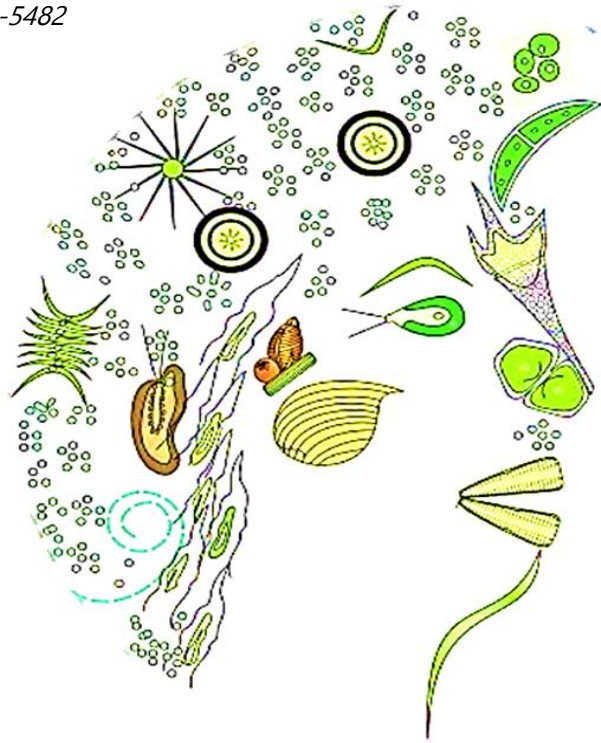


Imagen del XI Congreso de Ficología de Latinoamérica y el Caribe, Cali (2017)

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 3.2





# INDICE

<b>3.2. Evolución de compuestos volátiles y características sensoriales del alga verde (<i>Ulva rigida</i>) durante su almacenamiento a diferentes temperaturas .....</b>	<b>139</b>
<b>3.2.1. Resumen .....</b>	<b>139</b>
<b>3.2.2. Introducción .....</b>	<b>140</b>
<b>3.2.3. Material y métodos .....</b>	<b>142</b>
3.2.3.1. <i>Recolección y preparación de muestras .....</i>	<i>142</i>
3.2.3.2. <i>Sustancias químicas y reactivos .....</i>	<i>142</i>
3.2.3.3. <i>Extracción múltiple por absorción en espacio de cabeza y condiciones de GC/MS .....</i>	<i>142</i>
3.2.3.4. <i>Análisis sensorial descriptivo cuantitativo .....</i>	<i>145</i>
3.2.3.5. <i>Análisis estadístico .....</i>	<i>145</i>
<b>3.2.4. Resultados y discusión .....</b>	<b>145</b>
3.2.4.1. <i>Características de rendimiento de la metodología analítica .....</i>	<i>145</i>
3.2.4.2. <i>Compuestos volátiles .....</i>	<i>147</i>
3.2.4.3. <i>Estudio estadístico sobre compuestos volátiles .....</i>	<i>151</i>
3.2.4.4. <i>Relación entre los compuestos volátiles y el análisis sensorial .....</i>	<i>154</i>
<b>3.2.5. Conclusiones .....</b>	<b>156</b>
<b>3.2.6. Bibliografía .....</b>	<b>157</b>
 <b>Índice de figuras .....</b>	<b>159</b>
<b>Índice de tablas .....</b>	<b>159</b>



## **3.2. Evolución de compuestos volátiles y características sensoriales del alga verde (*Ulva rigida*) durante su almacenamiento a diferentes temperaturas**

### **3.2.1. Resumen**

Las algas son uno de los recursos más importantes que existen actualmente con múltiples usos y aplicaciones. Al igual que en otros tipos de alimentos, durante su almacenamiento se producen cambios significativos en las características sensoriales, asociadas a la pérdida de frescura y la producción y/o degradación de sus compuestos volátiles. En este estudio, se ha aplicado la extracción múltiple por absorción en espacio de cabeza (MHSSE) junto a la detección por cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) para determinar la evolución de los compuestos volátiles en algas verdes (*Ulva rigida*) durante doce días de almacenamiento a diferentes temperaturas (4 y 16 °C). La metodología analítica existente se ha actualizado y validado para 18 compuestos adicionales dando lugar finalmente a la cuantificación de 41 compuestos volátiles de diferentes familias químicas. Los aldehídos, los ácidos carboxílicos y los ésteres fueron los grupos principales encontrados en *U. rigida*. Se realizó un análisis estadístico con los datos analíticos y sensoriales. Durante el almacenamiento, la mayoría de los compuestos volátiles solo se vieron afectados por el número de días de almacenamiento ( $p < 0,05$ ), con disminuciones significativas a medida que aumentó el tiempo. El análisis sensorial reveló cambios significativos en las muestras almacenadas durante más tiempo (8, 10 y 12 días), con una clara influencia del descriptor de vegetales hervidos. Los resultados muestran, por tanto, que para conseguir la conservación de las algas marinas con éxito y mantener su carácter marino durante su almacenamiento, tanto la temperatura como el tiempo deben controlarse cuidadosamente.

### 3.2.2. Introducción

El uso de algas como vegetales marinos generalmente implica tratamientos de secado o salado y dichos tratamientos modifican en gran medida sus propiedades. Sin embargo, sólo un número muy limitado de estudios describen dicho impacto (Rioux *et al.*, 2017). Los compuestos aromáticos pueden modificarse mediante procesos químicos, bioquímicos o microbianos durante la extracción, procesamiento o almacenamiento de los alimentos afectando a su calidad general, su perfil sensorial y su vida útil (Tylewicz *et al.*, 2017). Luego la manipulación y el procesado de los alimentos desempeñan un papel fundamental en la degradación o pérdida de nutrientes y compuestos aromáticos, lo que puede dar como resultado mal sabor u olor en los productos finales (Evrendilek *et al.*, 2016). Le Pape *et al.*, (2002) observaron que el alga roja *Palmaria palmata* conservada en agua de mar artificial a 4 °C durante 15 días mostraba aromas marinos, como a algas marinas, yodadas y frescas, mientras que en las algas congeladas los aromas eran más herbáceos. También es importante señalar que las algas se caracterizan por presentar una rápida descomposición microbiana y química una vez recolectadas (Enriquez *et al.*, 1993; Pérez Lloréns *et al.*, 2018) que afecta a su calidad y perfil organoléptico y limita su uso como ingrediente en la elaboración de productos o en elaboraciones culinarias (Pérez Lloréns *et al.*, 2018). La frescura es un atributo de calidad que los consumidores aplican a alimentos selectos como las verduras, frutas, pescado y marisco. El estado de frescura de los alimentos puede evaluarse mediante métodos sensoriales, físicos, microbiológicos y químicos convencionales, pero los consumidores generalmente juzgan la frescura de los alimentos en función de sus cualidades sensoriales (Jung *et al.*, 2012). Los compuestos volátiles, considerados los parámetros más importantes en el sabor y la calidad de los alimentos (Ferraces-Casais *et al.*, 2013), definen el aroma de las macroalgas (Sun *et al.*, 2012). Estos compuestos se han estudiado en algas frescas (Ferraces-Casais *et al.*, 2013; Maruti *et al.*, 2018; Sugisawa *et al.*, 1990), secas o deshidratadas (Balbas *et al.*, 2015; López-Pérez *et al.*, 2017) y cocidas (Pina *et al.*, 2014), además de para determinar la frescura de los productos marinos durante el almacenamiento (Zhang *et al.*, 2010). López-Pérez *et al.* (2017) realizando una microextracción en fase sólida (SPME) y posterior análisis por cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS), encontraron más de 150 compuestos volátiles diferentes en siete especies de algas deshidratadas. Los compuestos más relevantes fueron los hidrocarburos seguidos de los alcoholes, los ácidos carboxílicos, los aldehídos y las cetonas. Además, las diferencias en

los niveles de todos los compuestos volátiles detectados entre estas especies fueron muy significativas (López-Pérez *et al.*, 2017). Un gran número de aldehídos y cetonas contribuyeron al flavor característico de las algas verdes (Sun *et al.*, 2012). Según Yamamoto *et al.* (2014), las algas de diferentes orígenes geográficos y botánicos pueden diferenciarse en función de su contenido en compuestos volátiles. Los perfiles de compuestos volátiles de las algas marinas frescas Kombu (*Laminaria* sp.) y Wakame (*Undaria pinnatifida*) se analizaron utilizando un espacio dinámico y GC/MS. Los alcoholes se identifican como los compuestos volátiles más importantes, seguidos de los hidrocarburos, los aldehídos, los compuestos halogenados y los ésteres (Ferraces-Casais *et al.*, 2013). Las macroalgas marinas pueden producir una amplia variedad de compuestos orgánicos volátiles (Ferraces-Casais *et al.*, 2013) entre los cuales se pueden encontrar hidrocarburos, terpenos, fenoles, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos grasos y compuestos que contienen halógenos o sulfuros. Según el pequeño número de estudios existentes sobre el contenido de compuestos volátiles en macroalgas (Ferraces-Casais *et al.*, 2013; Maruti *et al.*, 2018; Sugisawa *et al.*, 1990) su producción varía según la especie, el origen geográfico, las condiciones ambientales, el tiempo de recolección, la estación, la manipulación y el procesado. Sin embargo, otros factores como el grado de frescura pueden determinar los tipos y niveles de compuestos volátiles que se pueden encontrar en las algas, y no hay estudios previos al respecto. Al igual que otros tipos de alimentos, durante el almacenamiento de las algas se producen cambios significativos en las características sensoriales asociadas con la pérdida de frescura y con la producción y/o degradación de sus compuestos volátiles.

Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar, a través del análisis de sus compuestos volátiles, como el tiempo de almacenamiento y la temperatura influyeron en la pérdida de frescura del alga lechuga de mar (*Ulva rigida*) recolectada en los esteros de la bahía de Cádiz.

### 3.2.3. Material y métodos

#### 3.2.3.1. Recolección y preparación de muestras

Se utilizaron las mismas algas y, por tanto, la misma metodología descrita en el capítulo 3.1., en el apartado 3.1.3.1.

#### 3.2.3.2. Sustancias químicas y reactivos

En este estudio, se añadieron 18 nuevos compuestos a la metodología anterior desarrollada por Maruti *et al.*, (2018) siendo finalmente el número total de compuestos estudiados de 41. De Sigma Aldrich (St Louis, MO, EE. UU.) se adquirieron: sulfuro de dimetilo, 2-heptenal, 1-octen-3-ol, safranal, acetato de etilo, hexanal, 5-metilfurfural,  $\alpha$ -ionona, 2-hexenal, 2,4-heptadienal, 6-metil-5-hepten-2-un, furfural, ácido isovalérico, tetradecano, heptadecano,  $\beta$ -ciclocitral, acetato de isobutilo, heptanal, 2-pentil furano, octanal, nonanal, 2-etil hexanol, ácido propanoico, 2-nonenal, 2-undecanona, palmitato de isopropilo y palmitato de etilo. Succinato de dietilo, alcohol bencílico, fenol, ácido nonanoico, ácido hexanoico, 6-metil-2-heptanona, 1-butanol, ácido decanoico, ácido octanoico, benzaldehído y ácido acético se adquirieron de Merck KGaA (Darmstadt, Alemania).  $\beta$ -ionona, dimetilsulfóxido y el acetato de 2-feniletil fueron suministrados por Fluka (Buchs, Suiza). Todos estos patrones presentaron purezas superiores al 99%.

#### 3.2.3.3. Extracción múltiple por absorción en espacio de cabeza y condiciones de GC/MS

Las muestras se analizaron mediante extracción múltiple por absorción en espacio de cabeza (MHSSE) de acuerdo con Maruti *et al.* (2018). Se realizó una extracción por espacio de cabeza a 66 °C durante 180 min, empleando una barra agitadora de polidimetilsiloxano (PDMS) de 20 mm y 2 g de muestra molida dispuesta en viales de 20 mL. Posteriormente se realizó una desorción térmica usando una unidad de desorción térmica TDU (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Alemania) equipada con un automuestreador MPS 2 L (Gerstel) con capacidad para trabajar con hasta 98 barras de

agitación y conectada al sistema de inyección pre-refrigerado CIS-4 (Gerstel), que actúa como trampa criogénica y está acoplado a un inyector de temperatura programable (PTV). La temperatura de desorción se programó desde 40 a 300 °C a 60 °C min<sup>-1</sup> con 0,5 min de retraso y manteniéndose durante 10 min bajo un flujo de helio de 75 mL min<sup>-1</sup>. Los analitos desorbidos (volátiles) se crio-concentraron en el sistema PTV con nitrógeno líquido a -140 °C. El sistema PTV se programó desde -140 a 300 °C a 10 °C s<sup>-1</sup> manteniéndose la temperatura final durante 5 min. Los análisis por GC/MS en modo de impacto electrónico se realizaron en un sistema Agilent 7890 GC/ 5975C MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.) equipado con una columna capilar DB-Wax (60m × 0,25 mm id, 0,25 µm) (J&W Scientific, Folsom, CA, EE. UU.) y empleando helio como gas portador a 1 mL min<sup>-1</sup>. El horno GC se programó a 35 °C durante 10 min, luego se incrementó a 5 °C min<sup>-1</sup> hasta 100 °C y, finalmente, se aumentó a 210 °C a una velocidad de 3 °C min<sup>-1</sup> y se mantuvo durante 40 min. El espectrómetro de masas funcionó en modo de ionización de electrones a un voltaje de 70 eV en un rango de m/z de 30 a 400. La identificación de picos se llevó a cabo utilizando el Registro Wiley de datos de espectros de masas (7ª edición, 2000) por analogía de espectros de masas (nivel de coincidencia mínimo del 90%) y, además, confirmado por índices de retención lineal (LRI) de estándares o por datos de retención de la bibliografía (Tabla 3.2.1.).



**Tabla 3.2.1.** Iones monitoreados y tiempos de retención de todos los compuestos cuantificados.

Tiempo de retención (min)	LRI experimental <sup>a</sup>	LRI de literatura <sup>b</sup>	Nombre	Iones monitoreados ( <i>m/z</i> ) <sup>c</sup>
6,349	735	715	sulfuro de dimetilo	<b>62</b> , 47, 45
9,774	853	853	acetato de etilo	<b>43</b> , 58, 70
15,625	1050	1035	Acetato de isobutilo	<b>43</b> , 56, 41, 73
18,618	1121	1122	hexanal	<b>56</b> , 41, 44, 43
21,520	1190	1151	1-butanol	<b>56</b> , 41, 43
22,237	1200	1173	heptanal	<b>44</b> , 70, 41, 55
23,872	1245	1202	2-hexenal	<b>41</b> , 55, 39, 69
23,894	1228	1218	2-pentil furano	<b>81</b> , 53, 39, 138
24,240	1235	1228	6-metil-2-heptanona	<b>43</b> , 58, 71
26,026	1246	1278	octanal	<b>41</b> , 57, 84, 69
27,718	1334	1330	2-heptenal	<b>41</b> , 55, 83, 69
27,867	1337	1337	6-metil-5-hepten-2-ona	<b>43</b> , 41, 108, 55
30,032	1390	1390	nonanal	<b>57</b> , 70, 98, 82
30,569	1400	1400	tetradecano	<b>57</b> , 43, 71, 41
31,980	1437	1437	ácido acético	<b>43</b> , 45, 60
32,095	1440	1440	1-octen-3-ol	<b>57</b> , 43, 41, 55
32,617	1454	1454	furfural	<b>95</b> , 96, 39, 41
32,864	1461	1522	5-metil furfural	<b>110</b> , 109, 53, 81
33,323	1487	1482	2-etil hexanol	<b>57</b> , 41, 70, 83
33,921	1489	1487	2,4-heptadienal	<b>81</b> , 39, 53, 110
35,015	1519	1519	benzaldehído	<b>105</b> , 106, 77, 51
35,126	1524	1532	ácido propanoico	<b>45</b> , 74, 55
35,269	1544	1536	2-nonanal	<b>41</b> , 55, 70, 83
37,282	1580	1582	dimetilsulfóxido	<b>63</b> , 78, 45, 61
37,451	1612	1597	2-undecanone	<b>43</b> , 58, 71
38,808	1621	1590	beta ciclocitral	<b>137</b> , 109, 152, 81
39,657	1643	1650	safranal	<b>107</b> , 91, 121, 150
40,072	1655	1654	ácido isovalérico	<b>60</b> , 41, 43, 87
40,459	1665	1667	succinato de dietilo	<b>101</b> , 129, 55
41,763	1700	1700	heptadecano	<b>85</b> , 57, 43, 71
45,532	1817	1826	Acetato de 2-feniletilo	<b>104</b> , 43, 91
46,311	1842	1842	Ácido hexanoico	<b>60</b> , 73, 41, 43
46,947	1864	1872	alfa ionona	<b>121</b> , 93, 43, 91
47,570	1882	1879	alcohol de bencilo	<b>79</b> , 108, 77, 107
49,952	1957	1964	beta ionona	<b>177</b> , 43, 91, 178
51,882	2018	2021	fenol	<b>123</b> , 94, 66, 43
53,599	2071	2070	ácido octanoico	<b>60</b> , 73, 41
56,963	2179	2179	ácido nonanoico	<b>55</b> , 73, 41, 60
58,901	2215	2255	palmitato de isopropilo	<b>43</b> , 60, 73, 102
59,382	2188	2271	palmitato de etilo	<b>88</b> , 43, 101, 55
60,197	2281	2281	ácido decanoico	<b>73</b> , 60, 41, 129

<sup>a</sup> Índices de retención lineal para la columna DB-Wax calculados con la serie de n-alcanos C9-C30.<sup>b</sup> Índices de retención lineal obtenidos de la base de datos [www.chemspider.com](http://www.chemspider.com)<sup>c</sup> El primer fragmento en negrita se empleó para fines de cuantificación.

#### 3.2.3.4. *Análisis sensorial descriptivo cuantitativo*

Es la misma metodología descrita en el Capítulo 3.1., en el apartado 3.1.3.5., puesto que en este caso tan solo se realiza un análisis estadístico de los resultados del análisis sensorial descriptivo obtenido en el capítulo anterior, para determinar si existe relación con los diferentes compuestos volátiles.

#### 3.2.3.5. *Análisis estadístico*

Se realizaron análisis de varianza multivariante (MANOVA), análisis de componentes principales (ACP) y regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) utilizando los paquetes informáticos Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, EE. UU.) y Statgraphics Centurion, Versión 17.0 (Statpoint Technologies, Inc., The Plains, VA, EE. UU.) para Windows 8.1. Los datos se estandarizaron (1/desviación estándar) y se utilizó la corrección de Leverage para validar los modelos.

### 3.2.4. Resultados y discusión

#### 3.2.4.1. *Características de rendimiento de la metodología analítica*

La metodología empleada para la determinación de compuestos volátiles en macroalgas ha sido optimizada previamente por Maruti *et al.* (2018). En el presente trabajo, se consideran 18 nuevos compuestos volátiles adicionales en macroalgas: 1-butanol, 2-butil furano, heptanal, 2-pentil furano, 6-metil-2-heptanona, acetato de hexilo, octanal, nonanal, 2-etil hexanol, ácido propanoico, 2-nonenal, 2-undecanona, safranal,  $\alpha$ -ionona, acetato de 2-feniletilo, fenol, palmitato de isopropilo y palmitato de etilo. Para estos nuevos compuestos volátiles, se lleva a cabo su proceso de validación y se determinan sus constantes de progresión  $\beta$ . Este parámetro es necesario para la cuantificación de compuestos cuando se emplea MHSSE como técnica de extracción (Maruti *et al.*, 2018). Todos estos compuestos volátiles adicionales obtienen valores de  $\beta$  dentro de un rango aceptable (Tabla 3.2.2.). Además, para estos nuevos compuestos se preparan soluciones de calibración estándar en etanol desde 1  $\mu\text{g L}^{-1}$  a 100  $\text{mg L}^{-1}$ , cuyas curvas revelan una alta linealidad, y coeficientes de determinación superiores a 0,99 (Tabla 3.2.2.).

**Tabla 3.2.2.** Parámetros analíticos para los compuestos volátiles adicionales.

Compuesto	Promedio $\beta$	$r^2$	Pendiente	Intercepción	LOD <sup>a</sup>	LOQ <sup>a</sup>	CV intradía (%)	CV interdía (%)
2-butil furano	0,80	0,9973	161708	-2,0x10 <sup>7</sup>	0,200	0,891	3,8	25,0
1-butanol	0,89	0,9967	9192	-517215	5,3	17,2	18,6	13,3
heptanal	0,91	0,9979	21201	-748996	3,1	8,7	4,5	14,2
2-pentil furano	0,81	0,9969	231098	-2,1x10 <sup>7</sup>	0,143	0,589	17,8	18,3
6-metil-2-heptanona	0,86	0,9976	136258	-603419	0,296	0,993	11,7	14,9
acetato de hexilo	0,94	0,9977	135342	-3,2x10 <sup>6</sup>	0,658	1,6	13,4	18,1
octanal	0,86	0,9982	32426	1,4x10 <sup>6</sup>	1,3	4,3	18,4	0,61
nonanal	0,94	0,9955	48901	-1,2x10 <sup>6</sup>	1,7	3,9	12,2	19,0
2-etil hexanol	0,85	0,9961	115612	-1,1x10 <sup>7</sup>	0,275	0,931	2,2	10,7
ácido propanoico	0,70	0,9991	9236	962772	1,9	11,2	19,2	20,0
2-nonal	0,84	0,9955	50186	-3,3x10 <sup>6</sup>	0,567	1,8	15,0	19,7
2-undecanona	0,57	0,9959	261732	-3,5x10 <sup>7</sup>	0,054	0,636	1,7	6,4
safranal	0,85	0,9944	100980	100980	0,387	1,4	17,8	21,6
acetato 2-feniletilo	0,93	0,9954	218462	-1,0x10 <sup>7</sup>	0,298	0,684	7,3	19,0
alfa ionona	0,88	0,9967	12498	414830	4,1	14,0	5,5	4,2
fenol	0,87	0,9959	79865	-3,4x10 <sup>6</sup>	0,538	1,7	26,3	11,5
palmitato de isopropilo	0,73	0,9910	999304	1,2x10 <sup>8</sup>	0,022	0,134	19,3	19,8
palmitato de etilo	0,70	0,9930	11804	- 8,0x10 <sup>6</sup>	1,7	11,2	14,9	10,3

<sup>a</sup>  $\mu\text{g kg}^{-1}$  alga liofilizada.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se calculan mediante las ecuaciones descritas por Maruti *et al.* (2018). La mayoría de los compuestos presentan valores de LOD y LOQ lo suficientemente bajos si se tiene en cuenta el rango de concentración esperado en macroalgas (Maruti *et al.*, 2018). También se evalúa la precisión del método. La repetibilidad intradía se calcula extrayendo cuatro réplicas de muestras de *U. rigida* durante el mismo día y empleando diferentes barras de agitación. La repetitividad interdía, por otro lado, se evalúa extrayendo la misma muestra empleando la misma barra de agitación durante cuatro días consecutivos. Los valores obtenidos para los coeficientes de varianza de la precisión tanto intra como interdía son inferiores al 20% para la mayoría de los compuestos (Tabla 3.2.2.).

#### 3.2.4.2. Compuestos volátiles

Después de la evaluación analítica adicional realizada para los 18 compuestos mencionados anteriormente, se aplica la metodología a las muestras de *U. rigida* y se cuantifican cuarenta y un compuestos volátiles (Tabla 3.2.3.). De estos, dos son compuestos organosulfurados, seis ésteres, once aldehídos, cinco alcoholes, dos hidrocarburos, tres furanos, cinco cetonas y siete ácidos carboxílicos. Las tres familias principales de compuestos volátiles encontrados son aldehídos, ácidos carboxílicos y ésteres. Estudios realizados por Le Pape *et al.* (2002) mostraron que los principales compuestos volátiles en *P. palmata* eran compuestos halogenados seguidos de aldehídos, mientras que Pina *et al.* (2014) observaron en algas rojas (*Chondrus crispus*) que aldehídos, hidrocarburos y alcoholes eran los principales tipos de compuestos volátiles. Entre los aldehídos, los principales compuestos encontrados son hexanal y heptanal, que presentan las concentraciones más altas después del sulfuro de dimetilo y acetato de etilo; mientras que, los ácidos carboxílicos, ácido propanoico y hexanoico presentan las concentraciones más altas (Tabla 3.2.3.). Hexanal también se identifica como el compuesto volátil predominante en *Pterocladia capillacea* y *Osmundaria obtusiloba* y como el aldehído saturado lineal principal en *P. palmata*, *Porphyra umbilicalis*, *Saccharina latissima*, *Ulva lactuca* y *U. pinnatifida* (López-Pérez *et al.*, 2017). Su contribución al olor de las macroalgas es clara, proporcionando notas verdes y herbáceas (Barroso de Alencar *et al.*, 2017; Sugisawa *et al.*, 1990).

**Tabla 3.2.3.** Valores medios ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) y desviaciones estándar para tiempo de almacenamiento. Análisis múltiple de varianza para tiempo (t), temperatura de almacenamiento ( $T^a$ ) y su interacción.

Compuesto	Grupo 1 (n=6)	Grupo 2 (n:4)	Grupo 3 (n:4)	$T^a$	t	$T^a \times t$
sulfuro de dimetilo	57563±8597 <sup>a,b</sup>	19139±4890 <sup>a</sup>	110863±55605 <sup>b</sup>	0,1885	0,0170*	0,7236
acetato de etilo	30913±8386	47204±17954	55605±12893	0,4399	0,1578	0,4310
Acetate de isobutilo	nd <sup>a</sup>	2,75±0,43 <sup>a</sup>	24,92±3,82 <sup>b</sup>	0,3220	0,0000*	0,3806
hexanal	3768,5±324,4	3699,7±270,1	2833,5±590,2	0,0347*	0,0236*	0,0056*
1-butanol	1445,6±127,4	1900,3±164,1	1593,4±95,5	0,7829	0,7118	0,0699
heptanal	4238,6±573,6	4209,5±725,6	3846,5±791,4	0,3417	0,6143	0,1063
2-hexenal	1099,1±160,4 <sup>b</sup>	486,15±72,43 <sup>a</sup>	375,64±165,22 <sup>a</sup>	0,1611	0,0045*	0,1684
2-pentil furano	398,90±22,97	267,50±23,28	288,49±81,86	0,4457	0,2721	0,4279
6-metil-2-heptanona	192,06±31,26	118,03±11,77	81,86±31,41	0,2113	0,0500*	0,2982
octanal	413,83±86,94	324,34±54,85	334,61±50,46	0,2692	0,4592	0,9720
2-heptenal	71,29±11,03 <sup>b</sup>	58,24±6,36 <sup>a,b</sup>	46,85±12,87 <sup>a</sup>	0,9043	0,0453*	0,1687
6-metil-5-hepten-2-ona	14,99±13,79	7,01±13,35	1,30±10,55	0,7259	0,2734	0,1736
nonanal	921,97±200,30	907,09±137,33	1014,9±363,0	0,7569	0,7576	0,5111
tetradecano	2,06±0,16	1,33±0,22	1,54±0,22	0,5434	0,0586	0,0562
ácido acético	16,26±4,88 <sup>a</sup>	19,60±5,28 <sup>a,b</sup>	26,89±7,33 <sup>b</sup>	0,5319	0,0487*	0,7941
1-octen-3-ol	240,83±8,59	230,77±2,57	244,49±8,77	0,3573	0,5830	0,0364*
furfural	27,46±6,867	28,66±19,19	24,45±16,81	0,8796	0,9335	0,3162
5-metil furfural	263,66±31,73 <sup>a</sup>	299,95±29,72 <sup>a</sup>	136,04±21,23 <sup>b</sup>	0,1035	0,0022*	0,2231
2-etil hexanol	407,42±101,45	361,06±12,28	405,61±99,41	0,5666	0,6252	0,9020
2,4-heptadienal	411,64±99,02 <sup>b</sup>	287,31±25,83 <sup>a,b</sup>	230,43±64,64 <sup>a</sup>	0,8259	0,0143*	0,1893
benzaldehído	373,67±61,49 <sup>b</sup>	205,30±43,97 <sup>a,b</sup>	149,12±83,17 <sup>a</sup>	0,3447	0,0308*	0,4083
ácido propanoico	900,92±142,35	758,27±39,31	609,58±129,25	0,2954	0,3656	0,4013
2-nonanal	405,95±31,51	399,17±8,15	435,58±80,70	0,7582	0,5963	0,1886
dimetilsulfóxido	1218,5±266,2 <sup>a</sup>	1345,7±119,7 <sup>a</sup>	2346,7±184,0 <sup>b</sup>	0,0007*	0,0005*	0,0077*
2-undecanona	311,03±27,14	288,73±63,30	266,14±34,71	0,8455	0,6637	0,4142
beta ciclocitral	12,87±1,64	9,99±0,35	6,42±0,74	0,6249	0,0882	0,5330
safranal	210,56±9,37 <sup>a</sup>	199,73±3,14 <sup>a</sup>	234,06±5,73 <sup>b</sup>	0,4388	0,0121*	0,8889
ácido isovalérico	2,16±0,66 <sup>a</sup>	2,04±0,39 <sup>a,b</sup>	3,27±0,45 <sup>b</sup>	0,9162	0,0332*	0,5216
succinato de dietilo	1,36±0,07	1,44±0,13	1,55±0,02	0,6463	0,7597	0,6419
heptadecano	23,09±1,56 <sup>a</sup>	25,20±6,90 <sup>a,b</sup>	42,56±4,51 <sup>b</sup>	0,0123*	0,0005*	0,0002*
acetato 2-feniletilo	374,36±41,87	250,93±45,25	332,24±61,67	0,6550	0,1499	0,5231
ácido hexanoico	180,47±20,54 <sup>a</sup>	91,23±17,80 <sup>b</sup>	224,53±78,21 <sup>a</sup>	0,2057	0,0082*	0,8201
alfa ionona	1547,4±171,1 <sup>a,b</sup>	825,1±73,2 <sup>a</sup>	1150,5±143,4 <sup>b</sup>	1,0000	0,0243*	0,3354
alcohol de bencilo	44,06±3,85 <sup>a</sup>	88,33±9,85 <sup>b</sup>	46,41±6,81 <sup>a</sup>	0,4796	0,0205*	0,3611
beta ionona	19,45±2,34	12,59±0,83	12,99±2,77	0,5992	0,1056	0,1651
fenol	122,69±10,36	112,09±5,43	117,18±5,44	0,7145	0,7827	0,1294
ácido octanoico	4,01±0,93	3,32±0,84	4,77±0,70	0,7623	0,4830	0,7870
ácido nonanoico	32,40±0,24	31,49±0,72	32,96±1,06	0,2625	0,0526	0,9581
palmitato de isopropilo	2,07±0,73	1,00±0,66	0,73±0,39	0,2293	0,5264	0,3756
palmitato de etilo	1433,4±22,3	1439,9±21,3	1482,1±72,33	0,3827	0,3243	0,3939
ácido decanoico	0,75±0,19	0,50±0,14	0,01±0,01	0,1123	0,4879	0,4830

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

<sup>a, b</sup> Letras diferentes indican diferencias significativas según el tiempo de almacenamiento (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

En general, los aldehídos de cadena lineal y ramificada contribuyen con aromas herbáceos mientras que los aldehídos insaturados proporcionan aromas vegetales y a pescado (Peinado *et al.*, 2014). Según algunos autores, en las macroalgas, los aldehídos de cadena corta y media provienen de los ácidos grasos. El hexanal se produce a partir del ácido linoleico, que se forma por la reacción enzimática de la lipoxigenasa (Akakabe y Kajiwara, 2008). Kamenarska *et al.* (2002) encontraron varios aldehídos (decanal, heptanal, nonanal y hexanal) en especies de algas pardas del Mar Negro. El 2-hexenal fue el principal aldehído insaturado lineal y el benzaldehído fue el principal aldehído aromático en siete especies de algas comestibles deshidratadas (*Himantalia elongata*, *Laminaria ochroleuca*, *P. palmata*, *P. umbilicalis*, *S. latissima*, *U. lactuca* y *U. pinnatifida*).

En el presente estudio, los aldehídos insaturados lineales más importantes son 2-hexenal y 2-nonenal mientras que, para los aldehídos aromáticos, los principales son benzaldehído con valores medios entre 411,64 y 230,43  $\mu\text{g kg}^{-1}$  y safranal con valores próximos a 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . En cuanto a los ácidos carboxílicos, los principales son los ácidos propanoico y hexanoico. García-Jimenez *et al.* (2013) encontraron ácido propanoico y ácido acético en el alga roja *Gelidium arbuscula*. Para López-Pérez *et al.* (2017), el ácido carboxílico lineal más abundante fue el ácido acético, mientras que el ácido 3-metilbutanoico fue el principal ácido ramificado en siete especies de algas marinas. El ácido 3-metilbutanoico también se encuentra en el presente estudio, observándose que el tiempo de almacenamiento incrementa su concentración. Pina *et al.* (2014) estudiaron las modificaciones de diferentes compuestos volátiles de un alga roja comestible durante su proceso de cocción. Los ácidos solo se encontraron en las algas secas y no se detectaron en las algas hidratadas al vapor durante 30 minutos o cocinadas en agua hirviendo durante 20-30 minutos. En el caso de los ésteres, acetato de etilo, acetato de 2-feniletilo y palmitato de etilo fueron claramente los compuestos más importantes detectados.

Estudios anteriores han sugerido que la presencia de este tipo de compuestos volátiles depende del método de extracción (López-Pérez *et al.*, 2017). Esto podría explicar el hecho de que se obtengan diferentes ésteres como mayoritarios en diferentes especies de algas atendiendo al método de extracción. Ferraces-Casais *et al.* (2013) observaron, a través del análisis por espacio de cabeza dinámico, que el éster pentadecanoato de dibutilo fue el más abundante en *U. pinnatifida* y *Laminaria* sp., mientras que el

hexadecanoato de metilo fue el principal en *Ulva* sp. en estudios realizados por SPME (Yamamoto *et al.*, 2014). Este tipo de compuestos contribuye al olor dulce y afrutado de las macroalgas (Sun *et al.*, 2012).

En el grupo de los alcoholes se encuentran 1-butanol, con la mayor cantidad, junto a 1-octen-3-ol, 2-etil hexanol, alcohol bencílico y fenol. Los alcoholes en las macroalgas derivan de ácidos insaturados por reacciones de peroxidación a partir de carbohidratos, por glicólisis, o de aminoácidos (Peinado *et al.*, 2014). Los alcoholes son la familia más abundante de compuestos volátiles en las algas Wakame y Kombu (Ferraces-Casais *et al.*, 2013) con 3-hexen-1-ol y n-hexanol como los más abundantes en Wakame y pentenol en Kombu. Pina *et al.* (2014) encontraron 1-butanol, 1-octen-3-ol y otros alcoholes en algas rojas secas, pero solo etanol y 1-penten-3-ol en muestras sometidas a diferentes tratamientos culinarios. Los alcoholes de cadena ramificada como el 1-octen-3-ol, generalmente asociado con aromas herbáceos y a pescado, y el 2-etilhexanol, con notas de rosa verde, parecen contribuir significativamente a la fracción aromática en las algas si se consideran sus bajos umbrales de percepción (Peinado *et al.*, 2014).

Entre las cetonas, los compuestos predominantes han sido la 2-ionona, la 2-undecanona y la 6-metil-2-heptanona. Yamamoto *et al.* (2014) sugirieron que la  $\alpha$ -ionona, la  $\beta$ -ionona y la 6-metil-5-hepten-2-ona, todas ellas presentes en siete especies de algas comestibles deshidratadas, provienen de carotenoides como el licopeno y el fitoeno por división oxidativa. En general, la  $\beta$ -ionona y la  $\alpha$ -ionona, con notas florales, afrutadas y dulces y bajos umbrales de percepción, pueden contribuir al aroma de las algas marinas (Sun *et al.*, 2012). Entre los compuestos con azufre, debe mencionarse especialmente el sulfuro de dimetilo por su alta concentración. Este compuesto de azufre orgánico volátil, con un característico olor a coles hervidas, está presente junto con dimetil sulfóxido en todas las algas (López-Pérez *et al.*, 2017). De hecho, fue el principal compuesto azufrado en *G. arbuscula* (García-Jimenez *et al.*, 2013) y el único compuesto con azufre encontrado en varias macroalgas verdes, *Monostroma nitidum*, *Ulva prolifera* y *Ulva linza* (Yamamoto *et al.*, 2014). En el presente estudio, aparecen el dimetil sulfóxido y el acetato de etilo como los compuestos volátiles más importantes en *U. rigida*.

Con respecto a los hidrocarburos, solo se identifican y cuantifican dos, el tetradecano y el heptadecano. El primero es el hidrocarburo más abundante en las algas marrones y rojas (Kamenarska *et al.*, 2002) junto con el hexadecano en *U. pinnatifida* (Balbas *et al.*,

2015). Bravo-Linares *et al.*, (2010) observaron que en las algas verdes la producción de compuestos azufrados e hidrocarburos de C5 a C11 era mayor en condiciones de oscuridad mientras que para los aldehídos, se encontraron mayores concentraciones en aquellas algas almacenadas bajo iluminación. Pina *et al.* (2014) sólo encontraron tetradecano en algas rojas secas comestibles, que desapareció después de ciertos tratamientos culinarios. Los únicos furanos detectados en *U. rigida* han sido el 5-metilfurfural, el 2-pentilfurano y furfural. 2-Pentil furano es identificado previamente en algas rojas hidratadas y al vapor (Pina *et al.*, 2014). Furfural fue encontrado por Maruti *et al.* (2018) en *Enteromorpha* sp. y *Ulva* sp. deshidratadas. Esta es la primera vez que se identifica 5-metilfurfural en algas marinas.

#### 3.2.4.3. Estudio estadístico sobre compuestos volátiles

En primer lugar, se lleva a cabo un análisis multivariante de la varianza (MANOVA) teniendo en cuenta temperatura y número de días de almacenamiento como variables independientes. Para llevar a cabo el estudio estadístico de los datos y facilitar la discusión de los resultados, las muestras se separan en tres grupos (grupo 1: 0, 2 y 4 días de almacenamiento; grupo 2: 6 y 8 días de almacenamiento; grupo 3: 10 y 12 días de almacenamiento).

La mayoría de los compuestos volátiles se ven afectados por el número de días de almacenamiento ( $p < 0,05$ ), disminuyendo significativamente su contenido a medida que aumenta el tiempo de conservación. Algunos compuestos también se ven afectados por la temperatura, pero sólo tres de ellos (hexanal, dimetilsulfóxido y heptadecano) muestran diferencias significativas asociadas con ambas variables y con su interacción doble (Tabla 3.2.3.), viéndose claramente afectados por el tiempo de almacenamiento cuando se incrementa la temperatura.

En relación con la temperatura de almacenamiento, Kuo *et al.* (1996) han establecido que la temperatura óptima para la actividad de ciertas enzimas, como las oxidasas, oscila entre 26 y 35 °C, presentando, las algas almacenadas a 20 °C un aroma marino más típico que las almacenadas a 30 °C (Le Pape *et al.*, 2002). Pina *et al.* (2014) observaron una caída general en los compuestos volátiles (aldehídos, hidrocarburos, alcoholes, cetonas, ácidos, compuestos órganos sulfurados, etc.) en algas rojas después de ciertos tratamientos



térmicos culinarios. Le Pape *et al.* (2002) determinaron que la congelación modificaba en mayor grado la composición de *P. palmata* que la conservación en agua de mar a 4 °C durante 15 días.

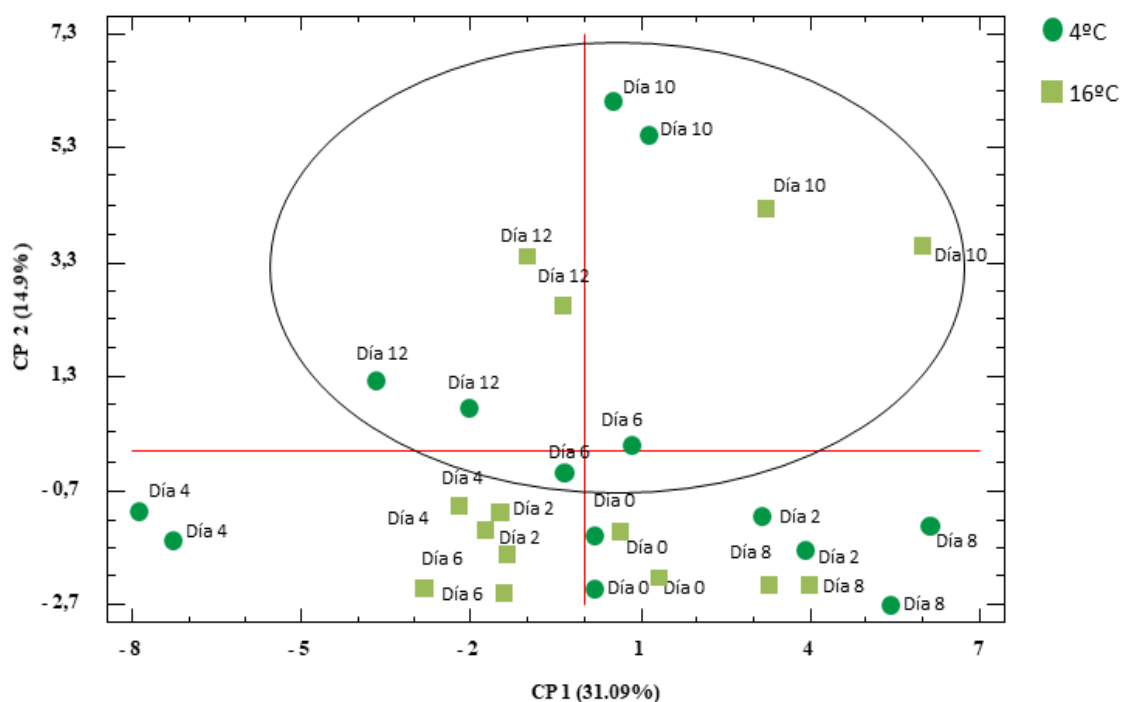
Los valores de temperatura aplicados en el presente estudio son más bajos que los empleados por Le Pape *et al.* (2002) y Pina *et al.* (2014) e incluso más bajos que los considerados óptimos para la actividad enzimática. Por lo tanto, es lógico que se haya encontrado poca influencia de la temperatura sobre los compuestos volátiles. Sorprendentemente, los compuestos como acetato de isobutilo, dimetil sulfóxido, ácido acético, ácido isovalérico y heptadecano aumentan sus concentraciones a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento. Los heptadecanos se forman a partir de ácidos grasos (Balbas *et al.*, 2015) mientras que el dimetil sulfóxido puede resultar de la oxidación fotoquímica o microbiana del sulfuro de dimetilo.

En este trabajo, la degradación fotoquímica no sería posible teniendo en cuenta que las muestras se almacenan en oscuridad. Por otra parte, el sulfuro de dimetilo aparece en una amplia variedad de especies de algas marinas gracias a la actividad enzimática de las liasas sobre sulfonio propionato de dimetilo. En la bibliografía se puede encontrar escasa información sobre la evolución de compuestos volátiles en algas marinas bajo diferentes condiciones ambientales. Algunos estudios sobre la influencia de la luz en la producción de sulfuro de dimetilo y disulfuro de dimetilo han establecido una mayor producción de estos compuestos cuando las algas verdes se mantienen en oscuridad durante 12 días. Los mismos resultados se observan para los hidrocarburos C5-C11. Sin embargo, en el caso de aldehídos y compuestos oxigenados, las mayores concentraciones se encontraron en las algas verdes almacenadas bajo iluminación. Luego parece ser que la producción de compuestos volátiles bajo condiciones de luz u oscuridad depende del tipo de algas (Bravo-Linares *et al.*, 2010) aunque deberían realizarse más estudios para establecer las reacciones que causan estas variaciones y los posibles factores que pueden influir en ellas.

Además del MANOVA, también se realiza un análisis de componentes principales (ACP) para establecer las posibles diferencias entre las muestras con respecto al contenido en compuestos volátiles. De dicho análisis se extraen nueve componentes principales (CP) de acuerdo con el criterio de Kaiser. La componente principal 1 (CP1; 31,09% de la variabilidad total) se ve correlacionada principalmente, con valores positivos, por  $\beta$ -

ionona,  $\beta$ -ciclocitral, 2-nonenal y tetradecano, mientras que la componente 2 (CP2) está positivamente correlacionada con acetato de isobutilo, safranal, dimetilsulfóxido, 2,4-heptadienal, ácido isovalérico, ácido acético, sulfuro de dimetilo y ácido hexanoico, explicando el 14,91% de la variabilidad total encontrada entre las muestras.

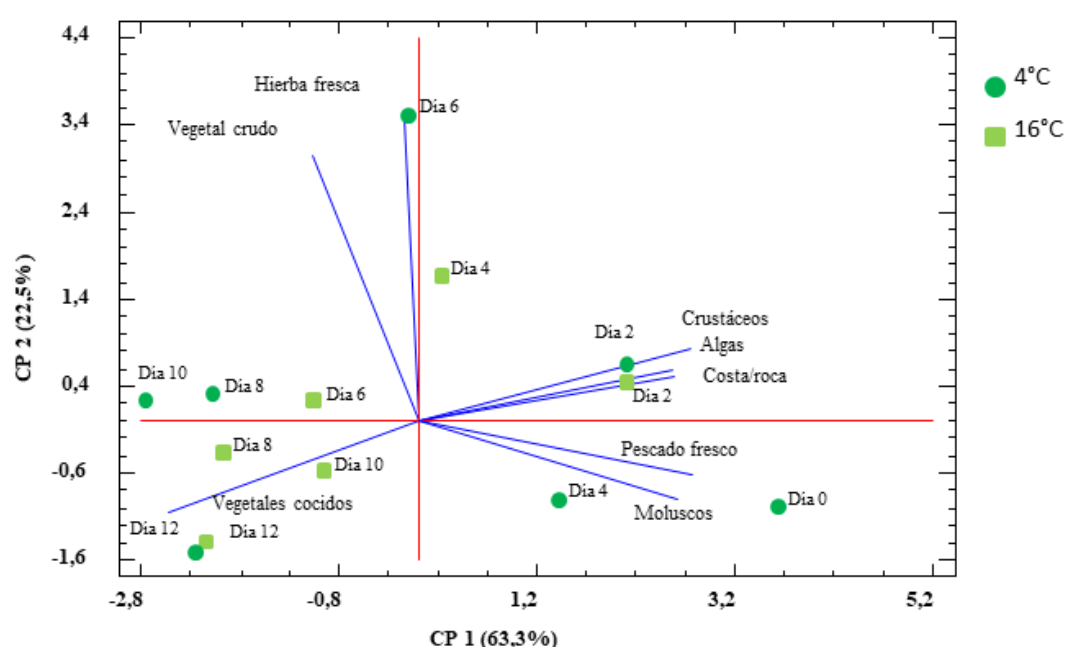
En el diagrama de dispersión de las muestras sobre el plano definido por CP1 y CP2 (Figura 3.2.1.) se observa claramente como el grupo 1 (0, 2 y 4 días de almacenamiento) y el grupo 2 (6 y 8 días) se encuentran intercalados. Si bien, la CP2 separa los grupos 1 y 2 del grupo 3 (10 y 12 días de almacenamiento), presentando valores positivos para esta CP. Cabe señalar que la mayoría de los compuestos volátiles que presentan incrementos a medida que el tiempo de almacenamiento aumenta (acetato de isobutilo, safranal, dimetilsulfóxido, ácido isovalérico, ácido acético y ácido hexanoico) también son los principales contribuyentes, con signo positivo, a esta CP. Por lo tanto, podemos concluir que la CP2 parece estar relacionada con el tiempo de almacenamiento.



**Figura 3.2.1.** Análisis de componentes principales sobre los datos sensoriales de *U. rigida*. Distribución de todas las muestras sobre el plano definido por la CP1 y la CP2.

### 3.2.4.4. Relación entre los compuestos volátiles y el análisis sensorial

En primer lugar, indicar que los resultados del análisis sensorial descriptivo (Cap.3.1., apartado 3.1.3.5.), se han utilizado para estudiar su relación con los compuestos volátiles. Como se observa anteriormente para los compuestos volátiles, el análisis MANOVA revela que el tiempo de almacenamiento tiene un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre todos los descriptores de aroma, mientras que la temperatura solo es significativa para los descriptores de aromas a moluscos, algas marinas, costa/roca, hierba fresca y vegetales hervidos (Tabla 3.2.4.). Como se puede ver, los descriptores de pescado fresco, algas, moluscos y crustáceos disminuyen a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento. Los descriptores de hierba fresca y vegetales crudos muestran inicialmente una tendencia ascendente y después disminuyen significativamente, mientras que el descriptor de vegetales hervidos muestra un aumento claro con el tiempo de almacenamiento. El ACP también se lleva a cabo sobre las puntuaciones medias de los descriptores aromáticos (Figura 3.2.2.). En este caso, se extraen dos componentes principales según el criterio de Kaiser que explican el 85,8% de la variabilidad total.



**Figura 3.2.2.** Análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de *U. rigida* durante el periodo de almacenamiento en los datos sensoriales. Distribución de las muestras en el plano definido por la CP1 y la CP2.

**Tabla 3.2.4.** Parámetros sensoriales (medias y desviaciones estándar) de las algas durante el periodo de almacenamiento.

Muestra	T <sup>a</sup> ( °C)	t (d)	Pescado fresco	Algas	Moluscos	Crustáceos	Costa/roca	Hierba fresca	Vegetal crudo	Vegetal cocido
0T4	4	0	3,6±0,5 <sup>c</sup>	5,0±0,0 <sup>a</sup>	3,8±0,4 <sup>a</sup>	2,6±0,5 <sup>a</sup>	2,6±0,5 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>
2T4		2	2,2±0,4 <sup>a</sup>	2,6±0,5	2,2±0,4 <sup>c</sup>	2,6±0,5 <sup>a</sup>	2,8±0,4 <sup>a</sup>	1,8±0,4 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>
4T4		4	2,2±0,4 <sup>a</sup>	1,2±0,4 <sup>b</sup>	1,8±0,4 <sup>c</sup>	2,8±0,4 <sup>a</sup>	1,8±0,4 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>
6T4		6	0,0±0,0 <sup>b</sup>	2,2±0,5	0,0±0,0 <sup>b</sup>	2,2±0,5	2,2±0,5 <sup>b</sup>	2,8±0,5	3,6±0,6	0,0±0,0 <sup>a</sup>
8T4		8	0,0±0,0 <sup>b</sup>	1,8±0,5 <sup>b</sup>	0,8±0,5 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	1,2±0,5 <sup>c</sup>	2,0±0,0 <sup>d</sup>	3,8±0,5 <sup>c</sup>
10T4		10	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,5±0,0	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	1,2±0,5 <sup>c</sup>	1,8±0,5 <sup>c,d</sup>	3,8±0,5 <sup>c</sup>
12T4		12	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>d</sup>	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	2,8±0,5 <sup>b</sup>
0T16	16	0	3,8±0,5 <sup>c</sup>	4,8±0,5 <sup>a</sup>	4,0±0,0 <sup>a</sup>	3,2±0,5 <sup>a</sup>	2,6±0,6 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>
2T16		2	2,2±0,5 <sup>a</sup>	3,0±0,0 <sup>c</sup>	2,2±0,5 <sup>c</sup>	2,8±0,5 <sup>a,b</sup>	2,2±0,5 <sup>a</sup>	1,6±0,6 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>
4T16		4	1,8±0,5 <sup>a</sup>	3,0±0,0 <sup>c</sup>	1,2±0,5	1,8±0,5 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	1,6±0,6 <sup>b</sup>	2,8±0,5	0,0±0,0 <sup>a</sup>
6T16		6	0,0±0,0 <sup>b</sup>	1,2±0,5 <sup>b</sup>	1,6±0,5 <sup>c</sup>	1,2±0,5	0,0±0,0 <sup>c</sup>	1,2±0,5 <sup>b</sup>	1,2±0,5 <sup>b</sup>	2,0±0,0
8T16		8	0,0±0,0 <sup>b</sup>	1,2±0,5 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,8±0,5	0,8±0,5	2,6±0,6 <sup>b</sup>
10T16		10	0,0±0,0 <sup>b</sup>	1,0±0,0 <sup>b</sup>	1,8±0,6 <sup>c</sup>	0,4±0,6 <sup>c</sup>	0,8±0,5	0,0±0,0 <sup>a</sup>	1,6±0,6 <sup>b,c</sup>	1,6±0,6 <sup>b</sup>
12T16		12	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>d</sup>	0,0±0,0 <sup>b</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>c</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,0±0,0 <sup>a</sup>	2,6±0,6 <sup>b</sup>

a, b, c, d Las mismas letras en la misma columna indican diferencias no significativas ( $p < 0,05$ , test de Tukey).

Los principales contribuyentes a CP1 son los descriptores aromáticos pescado fresco, crustáceos, moluscos, algas marinas, costa/roca y vegetales hervidos, con un signo negativo para este último. Para CP2, los principales contribuyentes son los aromas a hierba fresca y vegetales crudos, con signos positivos. Las muestras almacenadas por períodos más largos (8, 10 y 12 días) se sitúan en la zona con valores negativos tanto para CP2 como para CP1, mostrando una clara influencia del descriptor de vegetales hervidos (Figura 3.2.2.). Con el fin de determinar cualquier posible conexión entre los compuestos volátiles y los descriptores aromáticos, se lleva a cabo un estudio de regresión del mínimo cuadrático parcial (PLS).

Los aromas marinos (algas, moluscos, crustáceos, pescado fresco y mar) muestran una correlación inversa con acetato de isobutilo y ácido acético y una correlación positiva con ácido propanoico. Las notas herbáceas (hierba fresca, vegetales crudos y vegetales hervidos) se correlacionan positivamente con acetato de isobutilo, acetato de etilo, sulfóxido de dimetilo, 1-octen-3-ol, ácido acético y ácido isovalérico.

Los acetatos proporcionan olores dulces y afrutados, mientras que el dimetilsulfóxido y los ácidos isovalérico y propanoico son responsables de aromas picantes y a queso (Peinado *et al.* 2014). El 1-octen-3-ol, con notas a mariscos cocidos, ha sido señalado como un importante compuesto volátil en algas marinas (Van Durme *et al.*, 2013).

### 3.2.5. Conclusiones

Como se puede ver en los resultados, la temperatura juega un papel fundamental durante el almacenamiento de las algas, pues su carácter marino se ve influenciado por la misma. No obstante, se debe tener en cuenta la necesidad de realizar más trabajos para estudiar en detalle las posibles asociaciones entre aromas y compuestos volátiles, teniendo en cuenta factores tales como los umbrales de percepción y los posibles efectos de la matriz.

### 3.2.6. Bibliografía

- Akakabe, Y., Kajiware, T., 2008. Bioactive volatile compounds from marine algae: Feeding attractants. *J. Appl. Phycol.* 20, 661–664. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9309-x>
- Balbas, J., Hamid, N., Liu, T., Kantono, K., Robertson, J., White, W.L., Ma, Q., Lu, J., 2015. Comparison of physicochemical characteristics, sensory properties and volatile composition between commercial and New Zealand made wakame from *Undaria pinnatifida*. *Food Chem.* 186, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.079>
- Barba, F.J., 2017. Microalgae y seaweeds for food applications: Challenges and perspectives. *Food Res. Int.* 99, 969–970. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.022>
- Barroso de Alencar, D., Diniz, J.C., Rocha, S.A.S., dos Santos Pires-Cavalcante, K.M., Freitas, J.O., Nagano, C.S., Sampaio, A.H., Saker-Sampaio, S., 2017. Chemical composition of volatile compounds in two red seaweeds, *Pterocladia capillacea* and *Osmundaria obtusiloba*, using static headspace gas chromatography mass spectrometry. *J. Appl. Phycol.* 29, 1571–1576. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-1020-3>
- Bravo-Linares, C.M., Mudge, S.M., Loyola-sepulveda, R.H., 2010. Production of volatile organic compounds (VOCS) by temperate macroalgae: the use of solid phase microextraction (SPME) coupled to GC-MS as method of analysis. *J. Chil. Chem. Soc.* 55, 227–232. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072010000200018>
- Enriquez, S., Duarte, C., Sand-Jensen, K., 1993. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia* 94, 457–471. <https://doi.org/10.1007/BF00566960>
- Evrendilek, G.A., Avsar, Y.K., Evrendilek, F., 2016. Modelling stochastic variability and uncertainty in aroma active compounds of PEF-treated peach nectar as a function of physical and sensory properties, and treatment time. *Food Chem.* 190, 634–642. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.010>
- Ferraces-Casais, P., Lage-Yusty, M.A., Rodríguez-Bernaldo De Quirós, A., López-Hernández, J., 2013. Rapid identification of volatile compounds in fresh seaweed. *Talanta* 115, 798–800. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.049>
- García-Jiménez, P., Brito-Romano, O., Robaina, R.R., 2013. Production of volatiles by the red seaweed *Gelidium arbuscula* (Rhodophyta): Emission of ethylene and dimethyl sulfide. *J. Phycol.* 49, 661–669. <https://doi.org/10.1111/jpy.12083>
- Gupta, S., Abu-Ghannam, N., 2011. Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 12, 600–609. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.07.004>
- Jung, Y.J., Padmanabahn, A., Hong, J.H., Lim, J., Kim, K.O., 2012. Consumer freshness perception of spinach samples exposed to different storage conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 73, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.06.005>
- Kamenarska, Z., Dimitrova-Konaklieva, S., Stefanov, K., Najdenski, H., Tzvetkova, I., Popov, S., 2002. Comparative study of the volatile compounds from some Black Sea brown algae. *Bot. Mar.* 45, 502–509. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.053>
- Kuo, J.M., Hwang, A., Hsu, H.H., Pan, B.S., 1996. Preliminary identification of lipoxygenase in algae (*Enteromorpha intestinalis*) for aroma formation. *J. Agric. Food Chem.* 44, 2073–2077. <https://doi.org/10.1021/jf950774c>

- Le Pape, M.A., Grua-Priol, J., Demaimay, M., 2002. Effect of two storage conditions on the odor of an edible seaweed, *Palmaria palmata*, and optimization of an extraction procedure preserving its odor characteristics. *J. Food Sci.* 67, 3135–3139. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08871.x>
- López-Pérez, O., Picon, A., Nuñez, M., 2017. Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehydrated edible seaweeds. *Food Res. Int.* 99, 1002–1010. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.013>
- Maruti, A., Durán-Guerrero, E., Barroso, C.G., Castro, R., 2018. Optimization of a multiple headspace sorptive extraction method coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile compounds in macroalgae. *J. Chromatogr. A* 1551, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.011>
- Mouritsen, O.G., 2012. The emerging science of gastrophysics and its application to the algal cuisine. *Flavour* 1, 6. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-6>
- Peinado, I., Girón, J., Koutsidis, G., Ames, J.M., 2014. Chemical composition, antioxidant activity and sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds. *Food Res. Int.* 66, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.035>
- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Vergara, J.J., Brun, F.G., León, Á., 2018. *Those curious and delicious seaweeds: A fascinating voyage from biology to gastronomy*. UCA Press.
- Pina, A.L., Costa, A.R., Lage-Yusty, M.A., López-Hernández, J., 2014. An evaluation of edible red seaweed (*Chondrus crispus*) components and their modification during the cooking process. *LWT - Food Sci. Technol.* 56, 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.006>
- Rioux, L.E., Beaulieu, L., Turgeon, S.L., 2017. Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. *Food Hydrocoll.* 68, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.005>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Sugisawa, H., Nakamura, K., Tamura, H., 1990. The aroma profile of the volatiles in marine green algae (*Ulva pertusa*). *Food Rev. Int.* 6, 573–589. <https://doi.org/10.1080/87559129009540893>
- Sun, S.M., Chung, G.H., Shin, T.S., 2012. Volatile compounds of the green alga, *Capsosiphon fulvescens*. *J. Appl. Phycol.* 24, 1003–1013. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9724-x>
- Tylewicz, U., Inchingolo, R., Rodriguez-Estrada, M.T., 2017. Food aroma compounds, in: *Nutraceutical and functional food components*. Academic Press, 297–334. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00009-0>
- Van Durme, J., Goiris, K., De Winne, A., De Cooman, L., Muylaert, K., 2013. Evaluation of the volatile composition and sensory properties of five species of microalgae. *J. Agric. Food Chem.* 61, 10881–10890. <https://doi.org/10.1021/jf403112k>
- Yamamoto, M., Baldermann, S., Yoshikawa, K., Fujita, A., Mase, N., Watanabe, N., 2014. Determination of volatile compounds in four commercial samples of japanese green algae using solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry. *Sci. World J.* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/289780>
- Zhang, Z., Li, G., Luo, L., Chen, G., 2010. Study on seafood volatile profile characteristics during storage and its potential use for freshness evaluation by headspace solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 659, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.024>

Índice de figuras

**Figura 3.2.1.** Análisis de componentes principales sobre los datos sensoriales de *U. rigida*. Distribución de todas las muestras sobre el plano definido por la CP1 y la CP2 ..... 153

**Figura 3.2.2.** Análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de *U. rigida* durante el periodo de almacenamiento en los datos sensoriales ..... 154

Índice de tablas

**Tabla 3.2.1.** Iones monitoreados y tiempos de retención de todos los compuestos cuantificados ..... 144

**Tabla 3.2.2.** Parámetros analíticos para los compuestos volátiles adicionales ..... 146

**Tabla 3.2.3.** Valores medios y desviaciones estándar para tiempo de almacenamiento ..... 148

**Tabla 3.2.4.** Parámetros sensoriales de las algas durante el periodo de almacenamiento ..... 155





# Capítulo 4.1

## Efectos de los diferentes tratamientos de cocción en la composición de *Ulva* sp. de estero

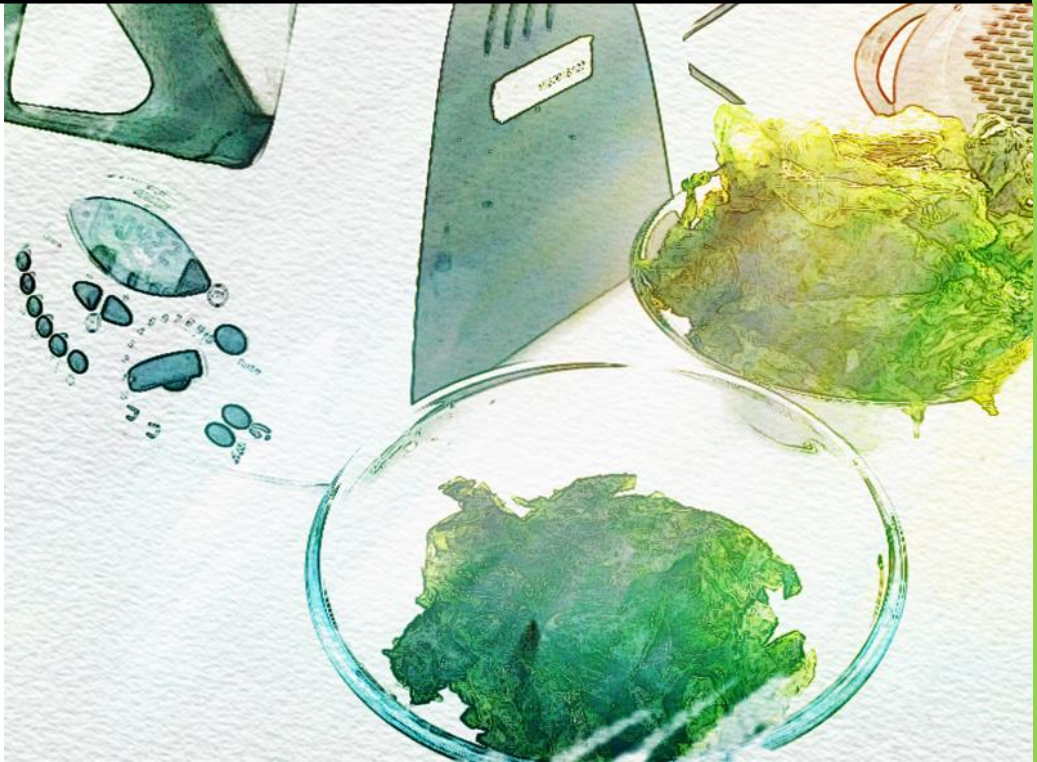


Imagen propia realizada durante el procesado de *Ulva* sp. de estero estudiada

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 4.1



# INDICE

<b>4.1. Efectos de los diferentes tratamientos de cocción en la composición química, propiedades funcionales y características sensoriales de <i>Ulva</i> sp. de estero .....</b>	<b>165</b>
<b>4.1.1. Resumen .....</b>	<b>165</b>
<b>4.1.2. Introducción .....</b>	<b>166</b>
<b>4.1.3. Material y métodos.....</b>	<b>170</b>
<i>4.1.3.1. Recolección y preparación de muestras.....</i>	<i>170</i>
<i>4.1.3.2. Tratamientos de cocción .....</i>	<i>170</i>
<i>4.1.3.3. Evaluación del tejido de las algas por microscopía óptica.....</i>	<i>171</i>
<i>4.1.3.4. Determinación de color y pigmentos.....</i>	<i>171</i>
<i>4.1.3.5. Determinación de la capacidad antioxidante .....</i>	<i>172</i>
<i>4.1.3.6. Determinación de la composición fisicoquímica.....</i>	<i>172</i>
<i>4.1.3.7. Análisis de ácidos grasos.....</i>	<i>173</i>
<i>4.1.3.8. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo .....</i>	<i>173</i>
<i>4.1.3.9. Análisis estadístico.....</i>	<i>174</i>
<b>4.1.4. Resultados y discusión .....</b>	<b>174</b>
<i>4.1.4.1. Efectos sobre el tejido estructural, color, pigmentos y capacidad antioxidante .....</i>	<i>174</i>
<i>4.1.4.2. Efectos sobre la <math>a_w</math>, pH y composición proximal.....</i>	<i>178</i>
<i>4.1.4.3. Efectos sobre el contenido en ácidos grasos .....</i>	<i>185</i>
<i>4.1.4.4. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo .....</i>	<i>189</i>
<i>4.1.4.5. Análisis de componentes principales.....</i>	<i>190</i>
<b>4.1.5. Conclusiones .....</b>	<b>193</b>
<b>4.1.6. Bibliografía .....</b>	<b>194</b>
 <b>Índice de figuras.....</b>	<b>198</b>
<b>Índice de tablas.....</b>	<b>198</b>



## **4.1. Efectos de los diferentes tratamientos de cocción en la composición química, propiedades funcionales y características sensoriales de *Ulva* sp. de estero**

### **4.1.1. Resumen**

La gran riqueza nutricional, funcional y tecnológica que ofrecen las algas junto a la cada vez mayor demanda de alimentos saludables, naturales y sostenibles han promovido su interés culinario en los últimos años llegando incluso a hablar de una nueva tendencia gastronómica, la ficogastronomía. La gran variedad de colores, texturas y sabores de las algas las convierten en un ingrediente ideal para la preparación de una amplia variedad de platos novedosos e innovadores, en cuyo diseño colaboran científicos, cocineros y empresarios gastronómicos. Gracias a dicha colaboración, el impulso de algunos chefs de reconocido prestigio, y el interés de los consumidores por mantener una dieta saludable y equilibrada, está creciendo el consumo de algas en los hogares españoles.

Sin embargo, todavía existe un gran desconocimiento por parte de la población en cuanto a sus formas de presentación y cocinado. Además, actualmente existe un gran conocimiento sobre los efectos de los tratamientos culinarios sobre carnes, pescados y verduras. Sin embargo, son pocos los estudios realizados sobre el efecto de estos tratamientos sobre las algas y sus propiedades nutricionales, funcionales y sensoriales y éste puede ser de gran importancia a la hora de realizar preparaciones culinarias o productos procesados a base de algas. El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de algunos tratamientos de cocción (hervido, al vapor y al vacío) sobre la estructura, composición fisicoquímica, funcional y características sensoriales de *Ulva* sp., una de las especies más consumida y presente en los esteros de la bahía de Cádiz. Los tratamientos se aplicaron a temperaturas de 100 °C en el caso del hervido, y al vapor, a 50 y 70 °C en la cocción al vacío. En todos los casos los tiempos de tratamiento fueron de 5, 10 y 15 min y se empleó el alga fresca cruda como control. Tras los tratamientos se observa que tanto la estructura, como la composición fisicoquímica de *Ulva* sp. y sus características funcionales y sensoriales se ven influenciadas significativamente por los métodos de cocción empleados. El efecto sobre dichas propiedades depende del método y tiempo de cocción empleados. En relación con la composición nutricional, el hervido es el método de cocción que más afecta a los contenidos en cenizas, proteínas, lípidos, ácidos

grasos insaturados y minerales (K, Ca, Mg y Cu) conllevando a su pérdida por reacciones químicas o por lixiviación, tanto más acusada a mayor tiempo de cocción. Por el contrario, la cocción al vacío es una técnica que respeta e incluso puede mejorar las características nutricionales del alga cruda.

Desde el punto de vista sensorial, de forma general los diferentes modos de cocción estudiados modifican el sabor y el aroma marino, característicos de *Ulva* sp. Sin embargo, contrariamente a lo que ocurre con la composición nutricional, el hervido durante cortos tiempos de aplicación es el método que respeta en mayor medida dichas características, principalmente desde el punto de vista aromático.

#### 4.1.2. Introducción

Las algas marinas han formado parte de la dieta diaria en poblaciones costeras de todo el mundo durante milenios debido a su diversidad, accesibilidad y, sobre todo, a su valor nutricional y palatabilidad (Mouritsen *et al.*, 2018; O'Connor, 2017). En los países orientales como Japón, China, Corea y en otros lugares como Hawái, existe una cultura gastronómica a base de algas que se ha mantenido tradicionalmente desde la antigüedad hasta nuestros días (Mouritsen *et al.*, 2018). Por el contrario, en Europa y América el consumo de algas ha sido poco habitual centrándose éste en pocos lugares como Bretaña, Irlanda, Islandia, Perú y Chile, países en los cuales dicho consumo estuvo promovido por la escasez de alimentos o hambruna (Pérez-Lloréns *et al.*, 2018).

No obstante, la búsqueda de nuevos recursos alimentarios sostenibles, el creciente interés por el consumo de alimentos saludables y productos naturales (Amorim *et al.*, 2012), y las buenas propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas que poseen las algas (Chan y Matanjun, 2017; Pérez Lloréns *et al.*, 2018), han hecho que éstas se vayan introduciendo cada vez más dentro de la gastronomía moderna (Mouritsen, 2012; Pérez-Lloréns *et al.*, 2018), llegando incluso a hablar actualmente de una nueva tendencia en la *haute cuisine*, la "ficogastronomía" (Mouritsen *et al.*, 2018). La gran variedad de colores, texturas y sabores de las algas las convierten en un ingrediente ideal para la preparación de una amplia variedad de platos novedosos e innovadores (McHugh, 2003; Mouritsen, 2013; Mouritsen *et al.*, 2018), en cuyo diseño colaboran científicos, cocineros y empresarios gastronómicos (Mouritsen *et al.*, 2018).

La tradición de cocinar con algas marinas está referenciada y documentada en numerosos libros de cocina tradicionales o modernos en todo el mundo, y en menor medida en monografías científicas que combinen ciencia, cocina, nutrición, salud y aplicaciones tecnológicas de las algas (Mouritsen *et al.*, 2018). Entre las macroalgas tradicionalmente consumidas por la población asiática, *Ulva*, *Laminaria* y *Porphyra* son de las más conocidas (Atlas *et al.*, 1998; O'Connor, 2017). El interés en Ulvales como producto alimenticio novedoso se está expandiendo en los países occidentales (Peña-Rodríguez *et al.*, 2011; Rioux *et al.*, 2017). Sin embargo, a excepción de los talos y frondas más jóvenes, la mayoría de las algas marinas son duras y difíciles de masticar cuando se recolectan frescas, incluso las frondas delgadas y delicadas de *Porphyra/Pyropia* spp. (laver) y *Ulva* sp. (lechuga de mar) (Mouritsen *et al.*, 2018). Secar, asar o cocinar las algas favorece el ablandamiento de sus tejidos y facilita su consumo, contribuyendo a mejorar su textura y características sensoriales (Palermo *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2019).

Son numerosos los trabajos que estudian los efectos de los métodos de cocción sobre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de las algas (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Amorim *et al.*, 2012; Chen y Roca, 2018; Choi *et al.*, 2010; Cox *et al.*, 2011; Maehre *et al.*, 2016; Pina *et al.*, 2014). Sin embargo, existen muy pocos trabajos que estudien los efectos de los tratamientos térmicos sobre los cambios estructurales y la liberación de nutrientes, siendo muy limitado el número de estudios que describen el impacto de la cocción en las algas marinas (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Amorim *et al.*, 2012; Chen y Roca, 2018; Cox *et al.*, 2011; Pina *et al.*, 2014; Rioux *et al.*, 2017). Hwang (2013) encontró una clara variación en el contenido de aminoácidos, minerales y metales de *Porphyra tenera* (alga roja), dependiendo del proceso de cocción. Otros autores, han determinado los efectos de la cocción en la actividad antioxidante (Pina *et al.*, 2014), compuestos bioactivos (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014), biodisponibilidad de los metales (As, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Se y Zn) (García Sartal *et al.*, 2013), compuestos volátiles (Maruti *et al.*, 2018; Pina *et al.*, 2014), constituyentes fitoquímicos (Cox *et al.*, 2012), perfil de clorofila (Chen y Roca, 2018), ficobiliproteínas, carotenoides ( $\beta$ -caroteno y luteína) (Amorim *et al.*, 2012; Pina *et al.*, 2014) y sabor umami en algas comestibles (Mouritsen *et al.*, 2018; Rioux *et al.*, 2017).

Durante un proceso térmico, las algas pueden perder integridad celular y tisular, llegando incluso a perder la capa epidérmica de la superficie (Maehre *et al.*, 2016). Esta variación estructural provoca varias modificaciones biológicas, físicas, químicas, tecnológicas y



nutricionales en las matrices de las algas (Maehre *et al.*, 2016). Entre ellas, se produce la liberación de compuestos bioactivos naturales mediante la ruptura de las paredes celulares, la descomposición de las estructuras moleculares complejas y la disociación de los enlaces moleculares entre los componentes de los alimentos (Hidalgo y Zamora, 2017; Rajauria *et al.*, 2010). Los componentes liberados incluyen, por ejemplo, metabolitos secundarios como los carotenoides y también pueden producir compuestos bioactivos nuevos mediante diferentes reacciones químicas (Hidalgo y Zamora, 2017; Zhao *et al.*, 2019) tales como la reacción de Maillard, proceso químico clave que tiene lugar durante el procesamiento térmico de alimentos (Wong *et al.*, 2018). Según numerosos autores, los tratamientos térmicos como el hervido o el cocinado al vapor incrementan el contenido de las algas en pigmentos y la capacidad antioxidante como en los casos del alga roja *Chondrus crispus* (Pina *et al.*, 2014), las algas pardas Wakame (Amorim *et al.*, 2012), Kombu (Amorim *et al.*, 2012; Chen y Roca, 2018), Nori (Chen y Roca, 2018), *Himanthalia elongata* (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Cox *et al.*, 2011; Rajauria *et al.*, 2010), *Laminaria saccharina* y *Laminaria digitata* (Rajauria *et al.*, 2010) y el alga verde *Ulva* sp. (Chen y Roca, 2018). Además, el color también se ve afectado por los tratamientos térmicos de manera que a medida que aumenta la temperatura, las variaciones de color son mayores (Rajauria *et al.*, 2010).

Desde el punto de vista nutricional, las algas marinas ricas en macronutrientes, como los carbohidratos, los lípidos y las proteínas (Mæhre *et al.*, 2016). Estos macronutrientes y especialmente los solubles en agua son sensibles al calor y se alteran con los tratamientos térmicos (Cox *et al.*, 2011; Florkiewicz *et al.*, 2018; Roy *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2019). Por otra parte, bajo determinados tratamientos térmicos como el cocinado a vapor, se produce una desnaturalización de las proteínas que disminuye su bioaccesibilidad frente al estado crudo (Alves *et al.*, 2018). En vegetales se ha demostrado que los tratamientos térmicos afectan a su composición química. Así, por ejemplo, el hervido en agua produce pérdidas de minerales y ácidos grasos poliinsaturados, proponiéndose técnicas de cocinado como el *sous-vide* o cocinado al vacío como alternativa a los métodos tradicionales para la conservación de la matriz inicial de los alimentos crudos (Florkiewicz *et al.*, 2018; Hosseini *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2019).

Los cambios en los aspectos sensoriales como textura, sabor, aroma y color durante la cocción determinan la aceptabilidad de las algas (Cox *et al.*, 2012; Maehre *et al.*, 2016; Nitschke y Stengel, 2016). La aplicación de calor y agua normalmente provoca un debilitamiento de la estructura original, dejando una textura más suave al finalizar el tratamiento térmico (Cox *et al.*, 2012; Maehre *et al.*, 2016). Con ello se consigue una disminución de la firmeza y resistencia a la masticación, facilitando así su consumo (Poelman *et al.*, 2013). No obstante, el contenido y la composición de los polisacáridos y las proteínas que componen la estructura de las algas, al igual que la de las plantas, puede variar considerablemente dependiendo de la especie, por lo que el tratamiento térmico afectará de forma diferente en su estructura, como se demostró en un estudio previo de las especies *Palmaria palmata* y *Alaria esculenta* (Maehre *et al.*, 2016).

En la actualidad, el consumo de algas en los hogares españoles está creciendo gracias a la innovación gastronómica, impulsada por algunos chefs de reconocido prestigio, y el interés creciente por mantener una dieta saludable y equilibrada (Mouritsen *et al.*, 2018; Pérez Lloréns *et al.*, 2018). Sin embargo, dado que las algas se someten a un tratamiento térmico antes de su consumo, es necesario evaluar los efectos de dicho tratamiento sobre estas propiedades. Un mayor conocimiento sobre los efectos de diferentes tratamientos de cocción en las algas puede ayudar no sólo al consumidor y al chef sino también al procesador de la industria alimentaria a limitar las pérdidas de nutrientes, sabores y aromas y mejorar su calidad nutricional y sensorial tras el procesado.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de distintos tratamientos de cocción (hervido, al vapor y al vacío) sobre la estructura, composición física (actividad de agua, pH y color), química (pigmentos, capacidad antioxidante, humedad, cenizas, proteínas, lípidos, minerales y ácidos grasos) y características sensoriales de *Ulva* sp., una de las especies más consumida y presente en los esteros de la bahía de Cádiz.

### 4.1.3. Material y métodos

#### 4.1.3.1. Recolección y preparación de muestras

La lechuga de mar (*Ulva* sp.) fue suministrada por la empresa Suralgas, localizada en Vejer de la Frontera (Cádiz) en marzo de 2018. Esta especie fue recolectada en esteros situados en la región litoral del Atlántico, al suroeste de España, y se sometió a un lavado y ozonizado previamente a su envasado en bandejas de 400 g. Antes de los tratamientos, se lavaron las algas con agua del grifo para eliminar cualquier resto de arena y/o epífitos, y se mezcló el contenido de los distintos envases para posteriormente dividirlo en distintas fracciones cada una de las cuales se sometería a un método de cocción (hervido, al vapor y al vacío) conservando una porción de algas crudas como control.

#### 4.1.3.2. Tratamientos de cocción

Los tratamientos térmicos se aplicaron a muestras de 300 g empleando un robot de cocina (Thermomix TM 31, Alemania) que se programó con las diferentes condiciones de cocción (temperatura y tiempo). El tratamiento de ebullición o hervido (B) se realizó a 100 °C durante 5, 10 y 15 minutos y el tiempo de cocción se comenzó a medir una vez alcanzada dicha temperatura, después de añadir las algas. La cocción al vapor (S) se desarrolló en las mismas condiciones que la ebullición en términos de temperatura y tiempo, pero sin contacto directo con el agua. Para la cocción al vacío (V), las muestras se colocaron en bolsas selladas al vacío y se sumergieron en un baño de agua a dos temperaturas diferentes (50 y 70 °C). Las muestras se sumergieron cuando el agua alcanzó la temperatura operativa deseada.

Una vez finalizados los tiempos de tratamiento, las muestras se enfriaron rápidamente por abatimiento de temperatura sumergiéndolas en hielo. Una vez enfriadas, una parte de la muestra se destinó directamente a los análisis de actividad de agua ( $a_w$ ), pH, color y cambios estructurales, así como su evaluación sensorial una vez atemperada la muestra a temperatura ambiente. El resto se congeló a -80 °C y se liofilizó empleando un liofilizador modelo Virtis K (Warminster, EE. UU.). Una vez liofilizadas las muestras se almacenaron en un desecador hasta los análisis posteriores.



**Figura 4.1.1.** Proceso de cocción y medidas directas del estudio.

#### *4.1.3.3. Evaluación del tejido de las algas por microscopía óptica*

Para observar los cambios producidos en las células estructurales por los diferentes tratamientos térmicos, se cortaron trozos pequeños de tejido de las algas sin cocinar y cocinados y se realizaron fotografías de todas las muestras a microscopía de luz transmitida de campo claro empleando un microscopio óptico Leica CME (Alemania) (aumento 1000x), equipado con una cámara digital (Nikon DS-5M, Nikon, Japón).

#### *4.1.3.4. Determinación de color y pigmentos*

La determinación del color se llevó a cabo utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3.1, en el apartado 3.1.3.2. El color se determinó inmediatamente después de realizar los tratamientos de cocción, una vez alcanzada la temperatura ambiente. Para evaluar el efecto de estos tratamientos sobre el color del alga se utilizó la muestra control (alga cruda) como referencia y el cambio de color se determinó según la ecuación de Silva y Silva (1999):

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2}$$

Donde  $L_0$ ,  $a_0$  y  $b_0$  son los parámetros de las muestras crudas del alga marina. La evaluación del color se realizó en tres puntos diferentes de la superficie de cada muestra y se registraron las mediciones por triplicado.

La determinación de clorofilas a (Cla) y b (Clb) se realizaron siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 2, en el apartado 2.3.6. Además, se determinó el contenido de carotenoides (xantófilas + carotenos). Para la determinación de Cla, Clb y carotenoides se utilizaron longitudes de onda ( $A$ , absorbancia) de 663, 645 y 470 nm, respectivamente. Las concentraciones de los pigmentos ( $\text{mg g}^{-1}$  PS) se calcularon mediante las ecuaciones de Lichtenthaler y Wellburn (1983) para acetona (100%):

$$Cla = 11,75A_{663} - 2,35A_{645}$$

$$Clb = 18,61A_{645} - 3,96A_{663}$$

$$C_{x+c} = 1000A_{470} - 2,27Cla - 81,40Clb/230$$

#### 4.1.3.5. Determinación de la capacidad antioxidante

Se ha utilizado la misma metodología descrita en el capítulo 2, en el apartado 2.3.6.

#### 4.1.3.6. Determinación de la composición fisicoquímica

La  $a_w$  y pH de las muestras se determinaron con la misma metodología descrita en el apartado 3.1.3.2. del Capítulo 3.1.

La composición proximal de las muestras se determinó atendiendo a los métodos descritos en el Capítulo 2, en el apartado 2.3.3. Además, se calculó el porcentaje de retención (MR) en el alga después de los tratamientos de cocción de los macro y micro-minerales utilizando la siguiente formula (Murphy et al., 1975):

$$MR (\%) = \frac{[\text{contenido mineral}] \text{ alga cocinada}}{[\text{contenido mineral}] \text{ alga cruda}} \times 100.$$

Para cada determinación de cada tratamiento se realizaron tres mediciones.

#### 4.1.3.7. *Análisis de ácidos grasos*

Los ácidos grasos se determinaron a partir de la extracción de lípidos del apartado anterior. Una vez realizada la extracción se procedió a su metilación siguiendo el método AOAC (2005) y posterior cuantificación por APGC-MS-Q-TOF. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizaron con un espectrómetro de masas de alta resolución SYNAPT G2, (Waters), un inyector relación Split (3:1) y una columna capilar Supelco (SLB® - 5ms). El gas portador fue helio (extra puro, 99,99%). La temperatura del inyector y de interface de gases fue de 280 y 320 °C, respectivamente. La posición del pico y el área se analizaron utilizando el software Masslynx (USA). Para la cuantificación se utilizó un estándar FAME de 37 componentes comprado en Sigma (nº CRM47885, St. Louis, MO, USA) para identificar y cuantificar FAME. También, se calculó el porcentaje de retención en el alga después de los tratamientos de cocción de los ácidos grasos con la misma fórmula descrita anteriormente (Murphy *et al.*, 1975). Los resultados se presentaron como g 100 g<sup>-1</sup> de alga seca.

#### 4.1.3.8. *Análisis sensorial descriptivo cuantitativo*

Se llevaron a cabo cinco sesiones de cata, una para cada tratamiento (crudo, hervido, al vapor, vacío 50 °C y vacío 70 °C), para determinar las diferencias entre los distintos tratamientos en comparación con las algas crudas. Las evaluaciones fueron realizadas por siete catadores previamente entrenados, con experiencia previa en análisis sensorial y de productos marinos. Para la evaluación se utilizaron copas de vidrio cubiertas con un vidrio de reloj para presentar las muestras de algas crudas y cocinadas, las cuales se evaluaron a temperatura ambiente entre las 11:00 y 13:00 horas.

El análisis sensorial se realizó en cabinas individuales con iluminación controlada, ubicadas en la sala de cata del Instituto de Viticultura y Agroalimentación (IVAGRO, Puerto Real). Cada miembro del panel de cata evaluó los descriptores de aromas utilizando la ficha de análisis sensorial descrita en el Capítulo 3.1., en el apartado 3.1.3.5.

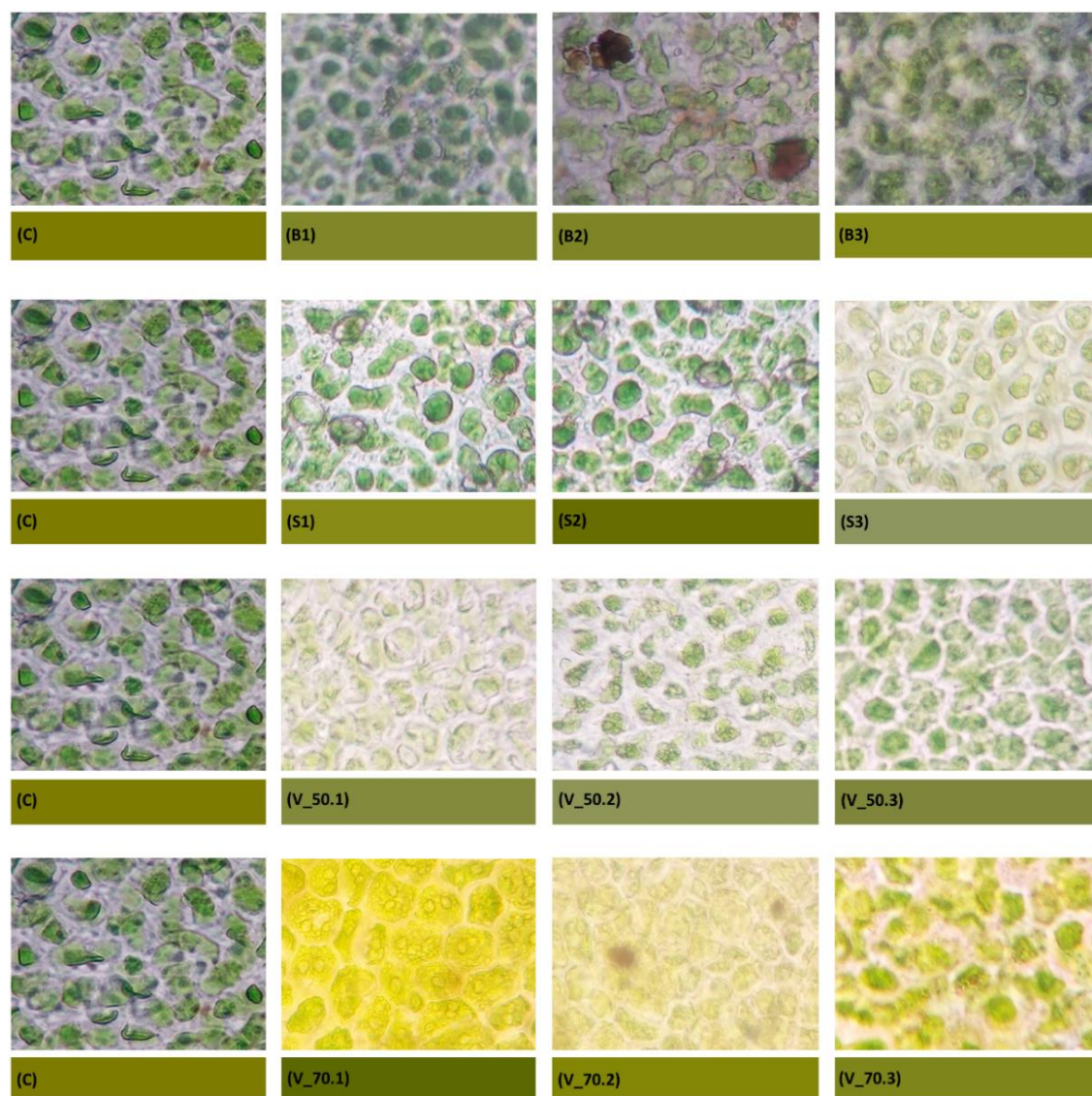
#### 4.1.3.9. Análisis estadístico

Los datos se presentaron como la media  $\pm$  desviación estándar, con determinaciones por triplicado. La significación estadística fue por ANOVA de una vía, con valores de  $p \leq 0,05$  considerados significativos. El análisis se realizó mediante GraphPad Prism, versión 6.01 para Windows (San Diego, CA). Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para el cual se utilizó el paquete estadístico SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.) empleando la carga de la matriz de componentes rotados con "quartimax" y la normalización de Kaiser como factor de extracción.

### 4.1.4. Resultados y discusión

#### 4.1.4.1. Efectos sobre el tejido estructural, color, pigmentos y capacidad antioxidante

En la Figura 4.1.2. se presentan las fotografías a microscopía de luz transmitida de campo claro (1000x) del tejido celular de *Ulva* sp. sometida a distintos tratamientos de cocción (hervido (B), al vapor (S) y al vacío a 50 °C (V\_50) y 70 °C (V\_70), y tiempos (1=5 minutos, 2= 10 minutos, 3= 15 minutos), frente a la muestra control cruda (C). Como se puede observar, los procesos de cocción influyen tanto en el color como en la estructura de *Ulva* sp., siendo mayor la influencia cuanto mayor es el tiempo de tratamiento. De todos los procesos, el hervido (B) es el que produce los mayores cambios a lo largo del tiempo (Figura 4.1.2.), destacando la ruptura de la estructura celular, que se percibe claramente al cabo de los 10 minutos (B2). El contacto del alga con el agua en ebullición puede favorecer las rupturas celulares y la migración de compuestos solubles. Por el contrario, la cocción al vapor (S) (Figura 4.1.2.) es el tratamiento que produce una menor variación a los 5 y 10 min con respecto a la muestra cruda, manteniéndose las estructuras celulares en mejor estado. Para los tratamientos al vacío (Figura 4.1.2. V\_50 y V\_70, respectivamente), presenta un resultado intermedio entre el hervido y la cocción al vapor. Como se puede observar, en este caso la temperatura de cocción va a influir de manera determinante. Mientras que a 50 °C los cambios estructurales que se producen en las células son muy similares a la cocción al vapor a 15 min, a 70 °C los efectos son muy similares a los del hervido, tanto en los cambios en la estructura superficial como en el color de las muestras.

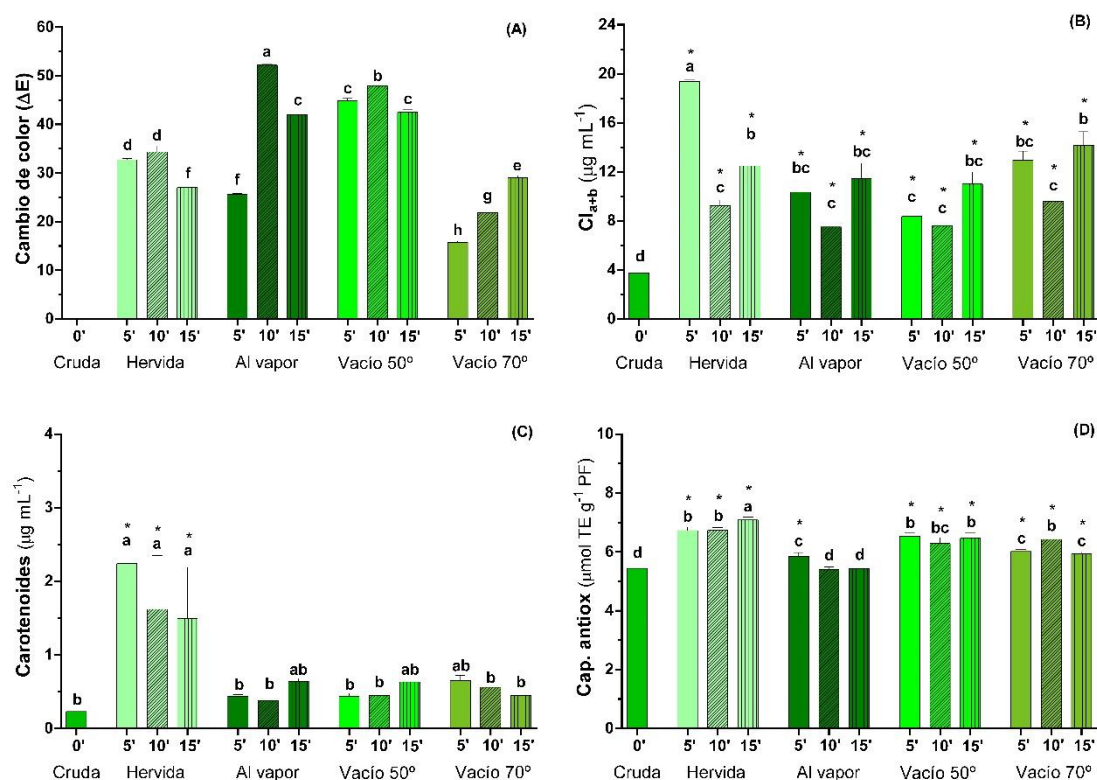


**Figura 4.1.2.** Fotografías a microscopio óptico (1000x) de *Ulva* sp. cruda (C), hervidas (B), al vapor (S) y al vacío 50 °C (V\_50) y 70 °C (V\_70) respectivamente, a los diferentes tiempos de cocción 5 (1), 10 (2) y 15 (3) minutos.

Estos resultados se han puesto de manifiesto por otros autores que constatan que los tratamientos de cocción producen la ruptura de las paredes celulares, la descomposición de estructuras moleculares complejas y la disociación de los enlaces moleculares entre los componentes de los alimentos (Hidalgo y Zamora, 2017; Zhao *et al.*, 2019). Visualmente todos los tratamientos de cocción mostraron una decoloración de las muestras a los 15 min (Figura 4.1.2.), siendo los tratamientos de cocción al vacío los más afectados.



Para evaluar de forma cuantitativa los cambios en el color del alga ( $\Delta E$ ) se usa la fórmula establecida por Silva y Silva (1999) que se calcula a partir de las variaciones que se producen (aumento o disminución) en los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de las muestras sometidas a los distintos tratamientos con respecto a la muestra cruda  $L_0^*$ ,  $a_0^*$  y  $b_0^*$  (Figura 4.1.3.A). Como se puede observar, los resultados muestran que los tratamientos térmicos de cocción producen cambios significativos en el color del alga. Los valores de  $\Delta E$  son todos los casos superiores a 12, que es el nivel a partir del cual se considerado como significativo el cambio de color (Silva y Silva, 1999), incluso al mínimo tiempo de tratamiento (5 min).



**Figura 4.1.3.** Cambio de color (A), contenido en clorofilas (B), carotenoides (C) y capacidad antioxidante (D) de *Uva* sp. crudas y procesadas térmicamente. Las letras indican las diferencias significativas entre los distintos tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD. El \* indica las diferencias significativas de los diferentes tratamientos con respecto a *Uva* sp. cruda.

Cabía esperar que las cocciones que han producido mayores daños en la estructura de la célula son las que producen mayores cambios en el color del alga. Sin embargo, el efecto ha sido el contrario. Las cocciones al vapor y al vacío a 50 °C son las que producen

los mayores cambios de color del alga (entre un 30-50%), sin existir correlación alguna con el tiempo de tratamiento. Por el contrario, el hervido y especialmente la cocción a vacío producen menos cambios de color (entre un 10-35%), existiendo en este último tratamiento una cierta correlación con el tiempo de tratamiento. Hay que entender que este parámetro mide solo los cambios de absorbancia que se producen con los tratamientos, pero en ningún momento nos indica si en ese cambio se produce un aumento o disminución de color. Tal y como se puede observar en la Figura 4.1.3.B, el contenido en clorofilas (a+b) de *Ulva* sp. aumenta de forma significativa ( $p < 0,05$ ) en todos los procesos térmicos de cocción aplicados, independientemente del tiempo de tratamiento. Sin embargo, en el caso de los carotenoides (Figura 4.1.3.C) este aumento no es tan significativo, salvo en el caso de las muestras hervidas ( $p < 0,05$ ) donde el medio acuoso parece favorecer su liberación hacia los tejidos del alga.

Como se puede observar, el hervido durante 5 min, es el tratamiento de cocción que produce mayores incrementos en los contenidos en clorofilas y carotenoides con respecto al alga cruda, aunque dicho efecto disminuye ligeramente a mayores tiempos de aplicación. Numerosos autores han podido constatar que los tratamientos de cocción pueden aumentar el contenido en pigmentos (clorofilas y carotenoides) en las algas en comparación con las muestras crudas (Amorim *et al.*, 2012; Pina *et al.*, 2014; Rajauria *et al.*, 2010). Esto se debe a que el tratamiento térmico produce la descomposición de la celulosa de la pared celular, favoreciéndose la extracción y biodisponibilidad de los pigmentos (Amorim *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2019). Este resultado sobre el contenido en clorofila es contrario al esperado atendiendo al estudio realizado por Chen y Roca (2018) para *Ulva* sp. hervida durante 20 minutos, en el cual se observa una disminución del 74 al 16% después de la cocción. Probablemente los tiempos aplicados en el presente estudio favorecieron la rotura celular y por tanto, la extracción de clorofilas frente a su degradación, mientras que a tiempos mayores de tratamiento, es probable que se favorezcan los fenómenos de degradación de las clorofilas en feofitinas o clorofilas oxidativas, lo cual explicaría los resultados obtenidos por Chen y Roca (2018).

En cuanto a los carotenoides, la mayoría son isómeros todo-*trans* (todo-E) (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Imsic *et al.*, 2010), aunque también existen isómeros *cis* (Z) que se pueden producir cuando la temperatura empleada es lo suficientemente alta como para inducir la disolución de la estructura cristalina del  $\beta$ -caroteno (Imsic *et al.*, 2010).

Según diversos autores (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007; Schieber y Carle, 2005) estos compuestos suelen verse afectados por los tratamientos culinarios. Así, se ha demostrado que en tratamientos como el microondas, el horneado o el hervido pueden producir un aumento de isómeros-Z, provocando cambios en la biodisponibilidad de estos pigmentos (Kao *et al.*, 2012). Resultados similares se han encontrado en estudios previos realizados con *Chondrus crispus* (Pina *et al.*, 2014) o *Himanthalia elongata* (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014), aunque en la mayoría de los casos, la variabilidad de resultados relativos a la estabilidad térmica de los carotenoides parecen estar influenciados tanto por las condiciones experimentales como por la naturaleza de la matriz alimentaria (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Burgos *et al.*, 2012; Kao *et al.*, 2012).

Atendiendo a la capacidad antioxidante (Figura 4.1.3.D), todos los tratamientos producen un ligero aumento con respecto a la muestra cruda, excepto las muestras al vapor a los 10 y 15 min. Numerosos autores (Kita *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2019) señalan que, durante la cocción, el calor induce numerosas reacciones químicas que conllevan a la formación de compuestos con capacidad antioxidante, siendo por tanto mayor la capacidad antioxidante de los productos cocinados. Sin embargo, en estudios realizados por Amorim-Carrilho *et al.* (2014), se observó que la cocción al vapor durante 40 min de *H. elongata* influía negativamente sobre la capacidad antioxidante, resultado similar al obtenido en el presente estudio. Luego el tipo de tratamiento térmico y el tiempo de exposición influyen en la capacidad antioxidante de las algas cocinadas, siendo el hervido el tratamiento que más favorece la formación de compuestos con dicha capacidad tal y como se había observado previamente en otros estudios (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Rajauria *et al.*, 2010).

#### 4.1.4.2. Efectos sobre la $a_w$ , pH y composición proximal

En la Tabla 4.1.1. se presentan los valores de  $a_w$ , pH y la composición proximal de *Ulva* sp. cruda y cocinada con diferentes métodos y tiempos de cocción. Como se puede observar todos los procesos de cocción producen un ligero aumento de la  $a_w$  (0,968-0,985) con respecto al alga cruda (0,960). Sin embargo, solo se observan diferencias significativas con respecto a las muestras crudas en las muestras: hervidas y cocinadas al vapor durante 15 minutos, cocidas al vacío a 50 °C con independencia del tiempo de tratamiento y la cocida al vacío a 70 °C durante 5 min. La  $a_w$  es un parámetro usado por

la industria alimentaria para determinar la cantidad de agua disponible (agua libre) en un alimento, para el desarrollo de las reacciones químicas y enzimáticas, y el crecimiento microbiano. Por tanto, el aumento de  $a_w$  que se produce en el alga con los tratamientos de cocción puede estar relacionado con la rotura celular y la liberación de agua libre o disponible del interior celular. Este efecto es más acusado cuanto mayor es el tiempo de cocción tanto en las muestras hervidas, cocinadas al vapor, como las cocinadas a vacío a 50 °C.

Por otra parte, como se puede observar en la Tabla 4.1.1., los tratamientos de cocción estudiados no producen modificaciones significativas del pH del alga, salvo en el caso del hervido donde aumenta considerablemente ( $p < 0,05$ ) de 6,52 (alga cruda) hasta valores entre 8,1-8,9. Este aumento de pH se puede deber al contacto directo del alga con el agua, lo cual favorece la absorción de agua durante la ebullición como ocurre en otros vegetales (Florkiewicz *et al.*, 2018; Podsedek, 2007). En el resto de tratamientos, las diferencias fueron menores y en algunos casos se observa un ligero aumento del pH (como en la cocción al vapor) y en otros, como la cocción a vacío, una disminución condicionada por la liberación de ácidos producidos durante el proceso térmico (Chen y Roca, 2018). Según Zhao *et al.* (2019), durante la cocción, pueden además producirse diversos cambios químicos y alterarse la composición proximal de los alimentos. Atendiendo a la composición proximal de *Ulva* sp. (Tabla 4.1.1.), el contenido en humedad de las muestras sometidas a los diferentes tratamientos térmicos no presenta diferencias significativas con respecto a la muestra cruda (91,84%), a excepción del hervido a los 10 minutos de tratamiento (96,4%) ( $p < 0,05$ ). Este aumento se debe a la absorción de agua del medio durante la ebullición.

Por otra parte, el contenido en cenizas (Tabla 4.1.1.) se mostró claramente afectado por los tratamientos, presentando diferencias significativas entre las muestras crudas (24,2%) y los diferentes tratamientos aplicados en el estudio, así como entre los diferentes tratamientos ( $p < 0,05$ ). Los métodos de cocción en presencia de agua fueron los que más pérdidas de cenizas produjeron, hasta un 38,6% el hervido y un 25,6% de pérdida la cocción al vapor. En ambos tratamientos las muestras estuvieron en contacto directo o indirecto con el agua produciéndose la pérdida de componentes solubles de las cenizas o su dilución, efecto más acusado al permanecer en contacto con el agua en ebullición durante la cocción (Florkiewicz *et al.*, 2018; Podsedek, 2007). En los tratamientos al vacío,

en los que no existió contacto con el agua en ebullición o al vapor, las pérdidas de cenizas fueron del 17,9 y 10,1% para 50 y 70 °C respectivamente. La aplicación de calor en presencia de agua provoca un debilitamiento de la estructura del alga disminuyendo su rigidez y dureza (Sharma *et al.*, 2012) y aumenta la bioaccesibilidad de sus componentes (Hidalgo y Zamora, 2017). Si estos componentes tienen carácter soluble pueden además lixivarse en el agua disminuyendo su contenido en el alga, como ocurre en las muestras hervidas y al vapor. Un efecto similar de los tratamientos se observa sobre las proteínas (Tabla 4.1.1), siendo nuevamente los tratamientos de hervido y cocción a vapor los que conducen a una pérdida del 32,8 y 27,3% respectivamente con respecto a las muestras crudas mientras que las pérdidas son sólo del 4,2 y 0,6% para los tratamientos al vacío a 50 y 70 °C respectivamente.

En cuanto al contenido en lípidos (Tabla 4.1.1.), en general, el efecto de los diferentes tratamientos sobre dicho contenido es menor que sobre otros componentes de las algas, suponiendo una pérdida de entre el 7,9 y el 19,8%. Nuevamente el hervido es el tratamiento que más afectó al contenido en lípidos seguido del vapor y la cocción al vacío a 70 °C con pérdidas del 19, 17,8 y 14,5%, respectivamente. Sólo la cocción al vacío a 50 °C y los tratamientos cortos de hervido y cocción al vapor no muestran diferencias significativas con respecto a la muestra cruda. Por tanto, solo a temperaturas superiores a 50 °C y elevados tiempos de cocción se favorecen las pérdidas de lípidos, bien por fenómenos de lixiviación y/o degradación.

Atendiendo al efecto de los distintos tratamientos sobre la composición macro (Na, K, Ca y Mg) y micro-mineral (Fe, Cu y Zn) (Tabla 4.1.2.) éstos no influyen de igual manera a ambos grupos de minerales, siendo los macro-minerales, por su carácter soluble, los más afectados. Las mayores pérdidas se producen en K (Figura 4.1.4.B), en más del 70%, y en Mg (Figura 4.1.4.D), en más del 50% con el tratamiento de hervido. Al igual que ocurre en otros alimentos, el K no se fija a la matriz del alimento, solubilizándose con cierta facilidad cuando el medio de cocción es acuoso.

**Tabla 4.1.1.** Comparativa entre la muestra cruda y las obtenidas con los distintos tratamientos de cocción en los parámetros a<sub>w</sub> pH y composición proximal.

	Cruda	Hervida			Al vapor			Al vacío (50 °C)			Al vacío (70 °C)		
	Control	5'	10'	15'	5'	10'	15'	5'	10'	15'	5'	10'	15'
pH	6,52±0,02 <sup>f</sup>	8,17±0,03 <sup>a *</sup>	8,87±0,08 <sup>b *</sup>	8,71±0,05 <sup>c *</sup>	6,87±0,02 <sup>d *</sup>	6,73±0,02 <sup>e *</sup>	6,73±0,03 <sup>e *</sup>	6,42±0,03 <sup>f</sup>	6,30±0,02 <sup>g *</sup>	6,30±0,08 <sup>g *</sup>	6,26±0,03 <sup>g *</sup>	6,51±0,03 <sup>f</sup>	6,63±0,02 <sup>e *</sup>
a <sub>w</sub>	0,960±0,003 <sup>b</sup>	0,972±0,008 <sup>b</sup>	0,968±0,001 <sup>b</sup>	0,985±0,002 <sup>a *</sup>	0,972±0,004 <sup>b</sup>	0,974±0,006 <sup>b</sup>	0,981±0,005 <sup>a *</sup>	0,983±0,005 <sup>a *</sup>	0,979±0,004 <sup>a *</sup>	0,987±0,005 <sup>a *</sup>	0,985±0,011 <sup>a *</sup>	0,975±0,003 <sup>b</sup>	0,971±0,003 <sup>b</sup>
Humedad (% PF)	91,8±0,2 <sup>b</sup>	93,7±1,7 <sup>ab</sup>	96,4±2,3 <sup>a *</sup>	92,6±2,3 <sup>ab</sup>	92,0±1,4 <sup>ab</sup>	92,5±1,5 <sup>ab</sup>	91,4±2,9 <sup>b</sup>	90,9±1,3 <sup>b</sup>	92,9±0,2 <sup>ab</sup>	93,5±3,4 <sup>ab</sup>	92,5±1,12 <sup>ab</sup>	91,7±1,4 <sup>ab</sup>	91,5±0,8 <sup>b</sup>
Cenizas (% PS)	24,2±0,3 <sup>a</sup>	14,1±0,6 <sup>d *</sup>	14,4±0,1 <sup>d *</sup>	16,1±0,2 <sup>c *</sup>	16,7±0,5 <sup>c *</sup>	16,7±0,3 <sup>c *</sup>	20,6±0,9 <sup>b *</sup>	17,0±0,5 <sup>c *</sup>	21,3±0,3 <sup>b *</sup>	21,3±0,7 <sup>b *</sup>	20,6±0,4 <sup>b *</sup>	22,3±0,7 <sup>a</sup>	22,4±0,1 <sup>b *</sup>
Proteínas (% PS)	23,8±0,1 <sup>b</sup>	21,5±0,6 <sup>b</sup>	11,4±0,5 <sup>e *</sup>	15,1±1,1 <sup>d *</sup>	19,9±3,6 <sup>c *</sup>	15,9±0,9 <sup>d *</sup>	16,1±2,5 <sup>d *</sup>	23,9±0,8 <sup>b</sup>	20,4±0,3 <sup>c *</sup>	24,1±0,2 <sup>b</sup>	27,1±0,2 <sup>a *</sup>	23,3±0,1 <sup>b</sup>	20,6±1,0 <sup>c *</sup>
Lípidos (% PS)	16,5±0,6 <sup>a</sup>	15,0±0,5 <sup>a</sup>	13,7±0,6 <sup>ab *</sup>	11,0±0,8 <sup>b *</sup>	14,8±0,8 <sup>a</sup>	12,9±0,6 <sup>ab *</sup>	13,0±0,6 <sup>ab *</sup>	15,4±0,3 <sup>a</sup>	15,2±0,6 <sup>a</sup>	15,0±0,9 <sup>a</sup>	14,2±1,1 <sup>ab *</sup>	14,1±0,1 <sup>ab *</sup>	14,0±0,4 <sup>ab *</sup>

Las letras (a-g) muestran las diferencias significativas entre tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey (*p* < 0,05). Todas en peso seco (PS) excepto la humedad en peso fresco (PF). Los datos muestran los valores medios (n=3) con desviación estándar (SD).

(\*) Muestra las diferencias significativas entre la muestra cruda y los distintos tratamientos.

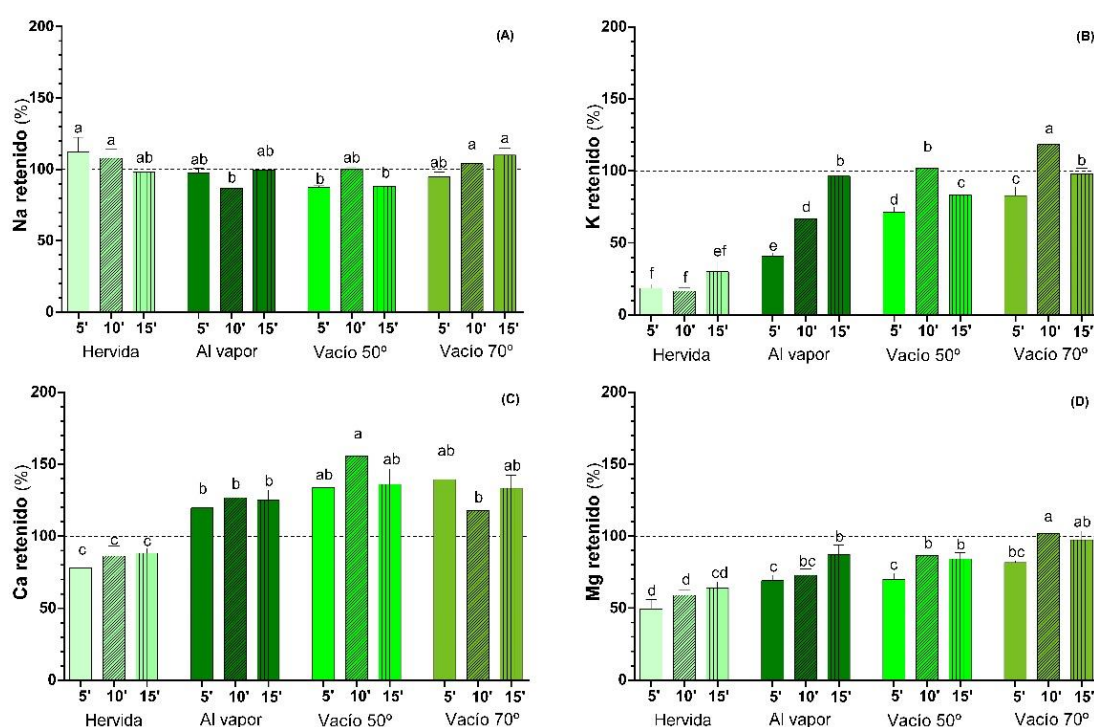
**Tabla 4.1.2.** Contenido en minerales en las muestras crudas y cocinadas de *Ulva* sp.

Minerales (mg 100g <sup>-1</sup> PS)	Cruda	Hervida			Al vapor			Al vacío (50 °C)			Al vacío (70 °C)		
	Control	5´	10´	15´	5´	10´	15´	5´	10´	15´	5´	10´	15´
Na	1273,7±19,8 <sup>c</sup>	1431,7±19,9 <sup>a *</sup>	1373,1±18,9 <sup>b *</sup>	1251,9±24,9 <sup>c</sup>	1239,4±14,9 <sup>c</sup>	1106,2±15,9 <sup>d *</sup>	1269,0±10,9 <sup>c</sup>	1066,2±17,9 <sup>d *</sup>	1276,2±19,8 <sup>c</sup>	1121,4±19,8 <sup>d *</sup>	1205,1±24,9 <sup>d *</sup>	1325,5±18,8 <sup>b *</sup>	1400,7±13,0 <sup>a *</sup>
K	844,0±24,6 <sup>b</sup>	156,0±11,5 <sup>g *</sup>	138,6±12,1 <sup>g *</sup>	253,1±14,5 <sup>f *</sup>	344,5±15,9 <sup>e *</sup>	561,5±19,9 <sup>d *</sup>	812,9±24,9 <sup>b</sup>	603,4±19,9 <sup>d *</sup>	860,5±14,9 <sup>b</sup>	701,6±13,9 <sup>c *</sup>	698,7±15,9 <sup>c *</sup>	998,3±19,3 <sup>a *</sup>	827,9±29,9 <sup>b</sup>
Ca	109,0±12,5 <sup>bc</sup>	85,1±11,5 <sup>c</sup>	93,9±13,5 <sup>c</sup>	96,2±16,9 <sup>c</sup>	130,3±12,5 <sup>b</sup>	138,2±15,9 <sup>b</sup>	136,2±13,5 <sup>b</sup>	145,9±14,9 <sup>b *</sup>	169,8±13,4 <sup>a *</sup>	148,3±15,4 <sup>b *</sup>	151,9±14,4 <sup>b *</sup>	128,5±12,5 <sup>b</sup>	145,3±25,5 <sup>b *</sup>
Mg	3019,9±54,2 <sup>a</sup>	1493,3±44,9 <sup>g *</sup>	1781,5±24,8 <sup>f *</sup>	1933,8±19,9 <sup>e *</sup>	2090,1±14,8 <sup>d *</sup>	2203,4±29,9 <sup>c *</sup>	2632,4±24,9 <sup>b *</sup>	2113,1±14,8 <sup>d *</sup>	2617,4±14,8 <sup>b *</sup>	2543,4±19,8 <sup>b *</sup>	2464,9±23,9 <sup>b *</sup>	3075,0±19,7 <sup>a</sup>	2940,8±15,9 <sup>a</sup>
Fe	125,7±10,5 <sup>b</sup>	105,0±9,4 <sup>b</sup>	140,1±12,5 <sup>ab *</sup>	154,3±11,5 <sup>a *</sup>	152,4±13,4 <sup>a *</sup>	116,4±9,4 <sup>b</sup>	124,7±11,5 <sup>b</sup>	105,9±15,5 <sup>b</sup>	119,1±8,5 <sup>b</sup>	118,9±12,5 <sup>b</sup>	156,1±13,5 <sup>a *</sup>	127,5±10,5 <sup>b</sup>	118,1±18,1 <sup>b</sup>
Cu	1,7±0,2 <sup>b</sup>	2,3±0,3 <sup>a *</sup>	1,5±0,1 <sup>b</sup>	1,5±0,3 <sup>b</sup>	2,5±0,2 <sup>a *</sup>	1,8±0,0 <sup>b</sup>	2,4±0,2 <sup>a *</sup>	0,8±0,1 <sup>cd *</sup>	0,9±0,1 <sup>cd *</sup>	0,6±0,0 <sup>d *</sup>	1,0±0,1 <sup>c *</sup>	0,6±0,0 <sup>d *</sup>	0,6±0,0 <sup>d *</sup>
Zn	1,9±0,1 <sup>b</sup>	2,7±0,3 <sup>a *</sup>	3,0±0,1 <sup>a *</sup>	2,5±0,1 <sup>a *</sup>	2,9±0,0 <sup>a *</sup>	2,1±0,1 <sup>b</sup>	1,9±0,2 <sup>b</sup>	2,0±0,1 <sup>b</sup>	2,1±0,1 <sup>b</sup>	1,9±0,2 <sup>b</sup>	2,9±0,6 <sup>a *</sup>	2,4±0,2 <sup>ab</sup>	2,3±0,2 <sup>ab</sup>
Macro-minerales	5246,6±111,0 <sup>a</sup>	3066,0±87,8 <sup>f *</sup>	3262,1±69,3 <sup>f *</sup>	3534,8±76,3 <sup>e *</sup>	3804,2±58,1 <sup>d *</sup>	4009,3±81,6 <sup>d *</sup>	4850,6±74,3 <sup>b *</sup>	3928,6±67,6 <sup>d *</sup>	4923,97±62,9 <sup>b *</sup>	4514,77±61,9 <sup>c *</sup>	4520,7±79,1 <sup>c *</sup>	5527,3±67,3 <sup>a</sup>	5314,6±84,3 <sup>a</sup>
Micro-minerales	129,4±10,8 <sup>b</sup>	110,1±10,0 <sup>b</sup>	144,6±12,7 <sup>a *</sup>	158,3±11,9 <sup>a *</sup>	157,7±13,6 <sup>a *</sup>	120,4±9,5 <sup>b</sup>	129,1±11,9 <sup>b</sup>	108,7±15,7 <sup>b</sup>	122,10±8,70 <sup>b</sup>	121,33±12,71 <sup>b</sup>	160,1±14,1 <sup>b</sup>	130,5±10,8 <sup>b</sup>	121,0±18,3 <sup>b</sup>

Las letras (a-f) muestran las diferencias significativas entre tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran los valores medios (n=3) con desviación estándar (SD).

(\*) Muestra las diferencias significativas entre la muestra cruda y los distintos tratamientos.

En cuanto al Mg (Figura 4.1.4.D), los resultados muestran un comportamiento similar en las muestras al vapor y cocinadas al vacío, permaneciendo los niveles más próximos a las muestras crudas, en las muestras cocinadas al vacío a 70 °C. Al igual que en estudios previos realizados con otras especies de macroalgas (Hwang, 2013; Santoso *et al.*, 2006), el contenido en Na (Figura 4.1.4.A), se mantiene tras la aplicación de los distintos tratamientos. Por el contrario, el Ca retenido (Figura 4.1.4.C) presenta valores superiores al 100% en todos los tratamientos, excepto en las muestras hervidas, en las que se produce una pérdida de hasta el 20% por lixiviación. El Ca es un mineral que se encuentra fijado al alimento, y menos soluble en agua, de ahí que su pérdida sea menor.

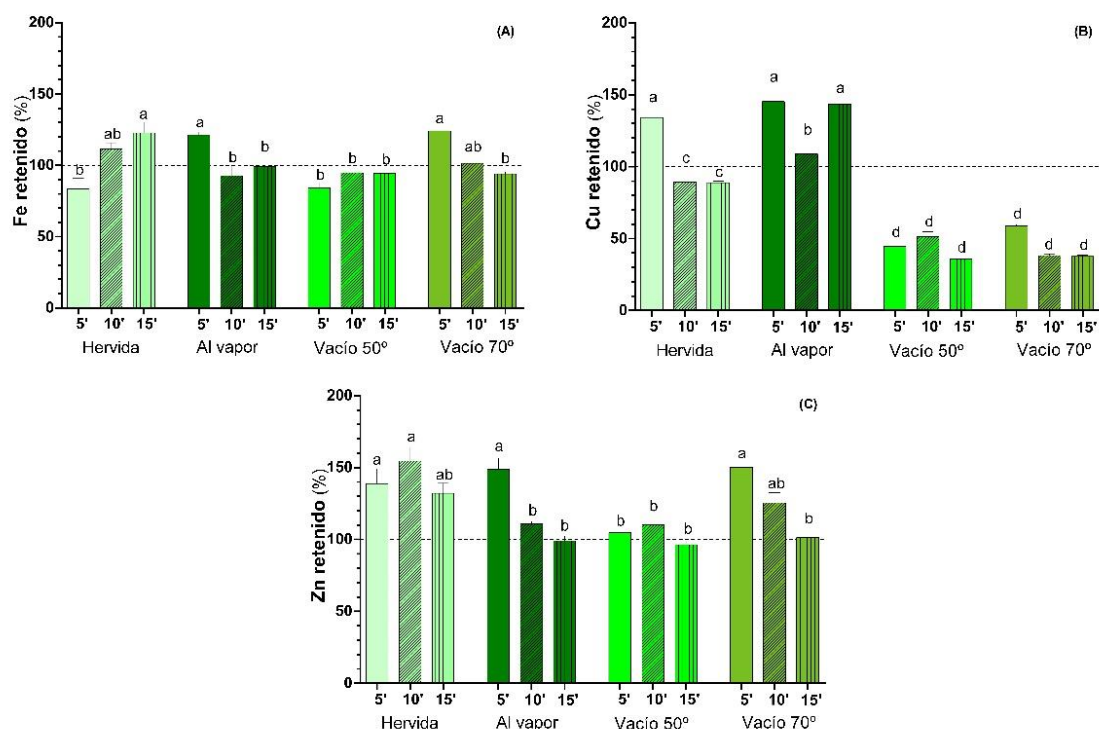


**Figura 4.1.4.** Porcentaje de retención de macro-minerales Na (A), K (B), Ca(C) y Mg (D) en *Ulva* sp. después de los tratamientos de cocción. Las letras indican las diferencias significativas entre los distintos tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD. La línea discontinua representa el alga cruda.

En el contenido total en micro-minerales (Tabla 4.1.2.) no se observan diferencias significativas entre las muestras cocinadas y la muestra cruda a excepción de las muestras hervidas a 10 y 15 min y la cocinada al vapor durante 5 min. El contenido en Fe de las muestras cocinadas no presenta diferencias significativas con respecto a las muestras crudas a excepción de las muestras hervidas (10 y 15 min), cocinadas al vapor (5 min) y cocinadas al vacío 70 °C (5 min) en las cuales los porcentajes de retención son superiores



al 100% (Figura 4.1.5.A). El Cu fue el mineral más influenciado por el tratamiento de cocción, observándose un descenso brusco de su contenido (entre el 40 y el 70%) en las muestras cocinadas al vacío con independencia del tiempo de cocinado y la temperatura (Figura 4.1.5.B). Por último, el contenido en Zn se vio mayormente influenciado por los tratamientos de hervido y cocción al vapor presentando valores de retención iguales o superiores al 100% (Figura 4.1.5.C).



**Figura 4.1.5.** Porcentaje de retención de micro-minerales Fe (A), Cu (B) y Zn (C) en *Ulva* sp. después de los tratamientos de cocción. La línea discontinua representa las muestras crudas. Las letras indican las diferencias significativas entre los distintos tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD. La línea discontinua representa el alga cruda.

Estudios previos realizados por García Sartal *et al.* (2013) en diferentes especies de algas deshidratadas sometidas a un tratamiento de hervido durante distintos tiempos según la especie tras su rehidratación mostraron un porcentaje de retención de micro minerales diferente según la especie y el tipo de mineral. Así, para lechuga de mar hervida durante 5 min, dichos autores observaron un porcentaje de retención del 49,7, 54,3 y 64,1% en Fe, Cu y Zn respectivamente, siendo estos más bajos que para las especies Kombu, Wakame y Nori sometidas a mayores tiempos de cocción (60, 20 y 15 min, respectivamente). En otras especies como *Laminaria* sp. fresca cocinada al vapor (105 °C)

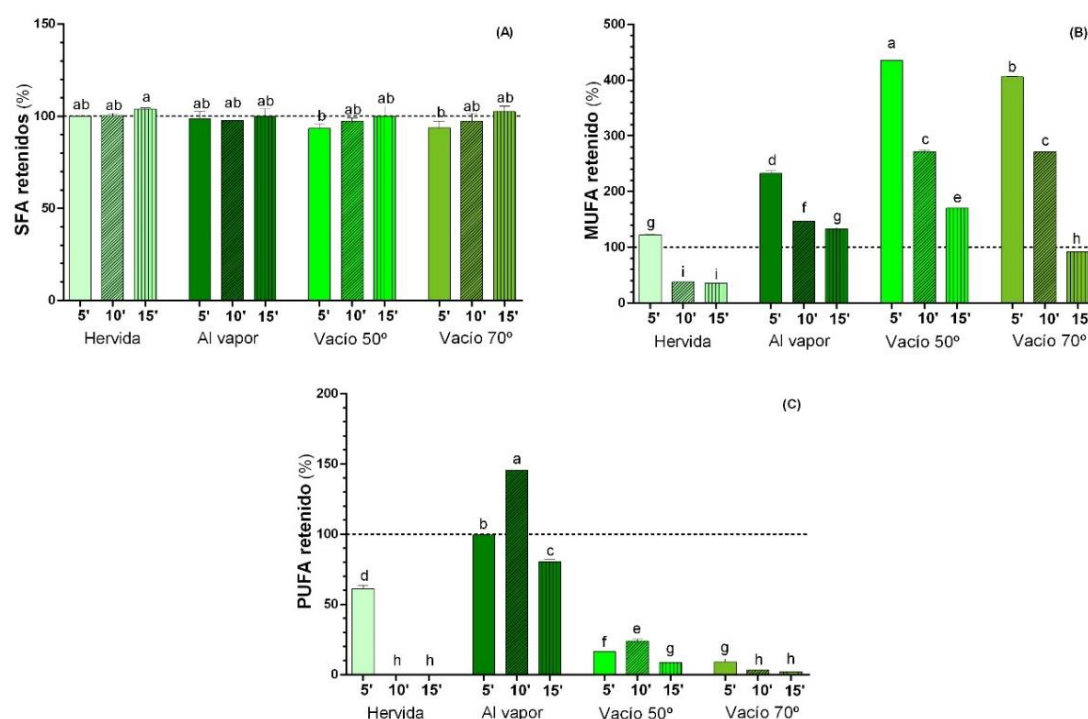
envuelta en papel de aluminio durante 15 min, los contenidos en Fe, Cu y Zn no se vieron afectados por dicho tratamiento (Alves *et al.*, 2018). Estos resultados ponen en evidencia que en el porcentaje de retención de micro minerales no sólo influye la especie, el micro mineral y el tratamiento de cocción aplicado sino también el pretratamiento realizado, como la deshidratación y rehidratación, que favorece la degradación de la matriz del alga y, por tanto, permite una mayor liberación y lixiviación de minerales incluso a tiempos de cocción de 5 min, como ocurre en los estudios realizados por García-Sartal *et al.* (2013).

#### 4.1.4.3. Efectos sobre el contenido en ácidos grasos

Estudios previos han demostrado que el pescado o las verduras cocidas pueden presentar un perfil de ácidos grasos diferente al de los productos crudos, según el método de cocción y la especie utilizada (Fabbri y Crosby, 2016; Nieva-Echevarría *et al.*, 2017; Weber *et al.*, 2008). En el caso de las algas, y concretamente de *Ulva* sp., no existen estudios previos sobre el efecto de los procesos culinarios sobre su perfil en ácidos grasos. Atendiendo a éstos de forma global, los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el efecto de los distintos tratamientos de cocción dependen también del tipo de ácido graso, observándose más efecto sobre los MUFAs y PUFAs que sobre los SFAs (Figura 4.1.6.) (Tabla 4.1.3.). Por otra parte, cabe destacar que los niveles de MUFAs y PUFAs van a estar relacionados debido al método de cuantificación utilizado basado en porcentajes, de manera que al disminuir significativamente el contenido de uno de ellos aumenta por consiguiente el porcentaje del otro (Santaella y Periago, 2007).

Tal y como se recoge en la Tabla 4.1.3., los contenidos en SFAs del alga *Ulva* sp., muy elevados en estado crudo, en niveles parecidos al de otros trabajos (McCauley *et al.*, 2016; Ortiz *et al.*, 2006; Yaich *et al.*, 2011), no se ven afectados por los diferentes tratamientos de cocción (Figura 4.1.6.A). Esto indica que los ácidos grasos saturados son muy estables frente a los tratamientos térmicos de cocción con independencia del tiempo y del medio de cocción. Los SFA más representativos son el ácido palmítico (C 16:0) y el ácido esteárico (C 18:0) (Tabla 4.1.3.) y sólo se observan efectos sobre los mismos con los tratamientos de hervido a partir de los 10 min y la cocción al vacío durante 5 min a ambas temperaturas ( $p < 0,05$ ).

El contenido en MUFAs, sin embargo, sí se muestra afectado por los distintos tratamientos de cocción y el tiempo de aplicación (Tabla 4.1.3.). Así, en todos los tratamientos aplicados, a excepción del hervido a partir de los 10 min y la cocción al vacío a 70 °C durante 15 min, se observa un aumento en el porcentaje de retención de MUFAs (Figura 4.1.6.B) (>100%). El mayor porcentaje de retención se alcanza a los 5 min con independencia del tratamiento de cocción, aunque fue más acusado para las cocciones al vacío a 50 y 70 °C. Dentro de los MUFAs, los compuestos más abundantes en *Ulva* sp. cruda son el ácido oleico (C 18:1) y el ácido palmitoleico (C16:1) (Tabla 4.1.3.), con valores similares a los obtenidos por otros autores para la misma especie (McCauley *et al.*, 2016; Yaich *et al.*, 2011). Ambos ácidos grasos se ven afectados por los distintos tratamientos de cocción y su duración, mostrando diferencias significativas con respecto a la muestra cruda y entre los diferentes tratamientos.



**Figura 4.1.6.** Porcentaje de retención de ácidos grasos SFA (A), MUFA (B) y PUFA (C) en *Ulva* sp. después de los tratamientos de cocción. La línea discontinua representa las muestras crudas. Las letras indican las diferencias significativas entre los distintos tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran valores medios ( $n = 3$ ) con SD. La línea discontinua representa el alga cruda.

El ácido palmitoleico se reduce considerablemente en todos los casos y en mayor proporción a medida que aumenta el tiempo de cocción. La cocción al vapor es la que presenta menos pérdidas de este ácido graso con un porcentaje de retención de entre 50 y 60% según la duración del tratamiento. En el resto de los casos las pérdidas llegan a suponer hasta de un 82% a los 15 min (hervido y cocción al vacío a 50 °C). En el caso del ácido oleico, el efecto es diferente. Sólo con el hervido se produce una pérdida continua de este ácido graso con el tiempo de cocción, llegando hasta niveles de retención del 52% con respecto al alga cruda ( $p < 0,05$ ). Para los demás tratamientos se produce una concentración de C18:1 a los 5 min de cocción siendo más notable en la cocción al vacío a 50 °C. A mayores tiempos de cocinado la retención de este ácido graso disminuye, alcanzando a los 15 min, niveles próximos a los del alga cruda.

En cuanto al contenido en PUFAs (Tabla 4.1.3.), éste presenta diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de retención de PUFAs en las muestras después de los tratamientos de cocción (Figura 4.1.6.C) muestra que el tratamiento menos agresivo fue la cocción al vapor, siendo el único tratamiento con el que se alcanzan porcentajes de retención  $>80\%$ , según el tiempo de cocción. El hervido durante 5 min tuvo disminuye también la retención de los PUFAs hasta un 61,3%, pero a mayores tiempos de cocción los niveles de ácidos grasos poliinsaturados descienden rápidamente hasta valores inferiores al 0,1%. Asimismo, los métodos de cocción al vacío afectan negativamente a los PUFAs favoreciendo su pérdida de retención o degradación. El efecto es mayor cuanto más alta es la temperatura y el tiempo de cocción, contabilizándose pérdidas superiores al 95%. Los compuestos mayoritarios dentro de este grupo en el alga cruda son el ácido linolénico (C 18-3, n-3) y, en menor medida, el ácido linoleico (C 18:2, n-3 y n-6) (Tabla 4.1.3.) al igual que en otros estudios previos de *Ulva* sp. (McCauley *et al.*, 2016; Yaich *et al.*, 2011), donde los altos niveles de ambos son características distintivas de las algas verdes (Holdt y Kraan, 2011).



**Tabla 4.1.3.** Contenido de ácidos grasos en las muestras crudas y cocinadas expresados en % total de ácidos grasos.

Ácidos grasos	Cruda	Hervida			Al vapor			Al vacío (50 °C)			Al vacío (70°)		
	Control	5´	10´	15´	5´	10´	15´	5´	10´	15´	5´	10´	15´
<b>C 8:0</b>	0,006±0,001 <sup>e</sup>	0,005±0,000 <sup>e</sup>	0,324±0,076 <sup>c *</sup>	0,682±0,050 <sup>a *</sup>	0,009±0,001 <sup>e</sup>	0,009±0,002 <sup>e</sup>	0,014±0,007 <sup>e</sup>	0,002±0,000 <sup>e</sup>	0,197±0,013 <sup>d *</sup>	0,240±0,039 <sup>cd *</sup>	0,449±0,043 <sup>b *</sup>	0,640±0,025 <sup>a *</sup>	0,745±0,087 <sup>a *</sup>
<b>C 10:0</b>	0,086±0,008 <sup>d</sup>	0,030±0,009 <sup>d</sup>	0,897±0,121 <sup>b *</sup>	1,904±0,154 <sup>a *</sup>	0,059±0,005 <sup>d</sup>	0,088±0,009 <sup>d</sup>	0,071±0,013 <sup>d</sup>	0,004±0,001 <sup>e *</sup>	0,736±0,011 <sup>b *</sup>	0,680±0,040 <sup>c *</sup>	0,897±0,022 <sup>b *</sup>	0,678±0,032 <sup>c *</sup>	1,096±0,102 <sup>d</sup>
<b>C 11:0</b>	0,012±0,002 <sup>d</sup>	0,005±0,001 <sup>d</sup>	0,176±0,052 <sup>c *</sup>	0,218±0,039 <sup>c *</sup>	0,017±0,006 <sup>d</sup>	0,009±0,001 <sup>d</sup>	0,017±0,003 <sup>d</sup>	0,010±0,003 <sup>d</sup>	0,129±0,018 <sup>c *</sup>	0,189±0,022 <sup>c *</sup>	0,432±0,087 <sup>b *</sup>	0,596±0,067 <sup>a *</sup>	0,662±0,043 <sup>a *</sup>
<b>C 12:0</b>	0,331±0,080 <sup>e</sup>	0,168±0,016 <sup>f *</sup>	1,410±0,037 <sup>a *</sup>	1,083±0,025 <sup>b *</sup>	0,280±0,038 <sup>e</sup>	0,540±0,046 <sup>d *</sup>	0,327±0,064 <sup>e</sup>	0,358±0,074 <sup>e</sup>	0,559±0,117 <sup>d *</sup>	0,603±0,043 <sup>d *</sup>	0,311±0,091 <sup>e</sup>	0,603±0,089 <sup>d *</sup>	0,784±0,021 <sup>c *</sup>
<b>C 13:0</b>	0,208±0,032 <sup>b</sup>	0,075±0,011 <sup>c *</sup>	0,644±0,025 <sup>a *</sup>	0,559±0,037 <sup>a *</sup>	0,200±0,012 <sup>b</sup>	0,164±0,018 <sup>bc</sup>	0,148±0,016 <sup>bc</sup>	0,180±0,011 <sup>bc</sup>	0,314±0,098 <sup>b</sup>	0,584±0,031 <sup>a *</sup>	0,205±0,016 <sup>b</sup>	0,584±0,020 <sup>a *</sup>	0,673±0,084 <sup>a *</sup>
<b>C 14:0</b>	3,812±0,078 <sup>c</sup>	2,226±0,124 <sup>d *</sup>	6,911±0,218 <sup>a *</sup>	5,352±0,196 <sup>b *</sup>	3,306±0,461 <sup>cd</sup>	3,499±0,124 <sup>c</sup>	3,021±0,466 <sup>cd</sup>	3,974±0,232 <sup>c</sup>	3,996±0,779 <sup>c</sup>	4,576±0,699 <sup>bc</sup>	3,020±0,009 <sup>cd</sup>	4,010±0,173 <sup>c</sup>	5,160±0,231 <sup>b *</sup>
<b>C 15:0</b>	4,558±0,091 <sup>a</sup>	2,345±0,152 <sup>b *</sup>	4,918±0,176 <sup>a</sup>	3,633±0,231 <sup>ab</sup>	2,785±0,271 <sup>b *</sup>	2,858±0,157 <sup>b *</sup>	2,132±0,180 <sup>b *</sup>	3,023±0,098 <sup>b *</sup>	3,565±0,805 <sup>ab</sup>	3,886±0,404 <sup>a</sup>	2,984±0,211 <sup>b *</sup>	3,091±0,325 <sup>b *</sup>	3,921±0,432 <sup>a</sup>
<b>C 16:0</b>	62,002±0,324 <sup>a</sup>	62,172±0,782 <sup>a</sup>	50,028±0,854 <sup>b *</sup>	53,840±1,034 <sup>a</sup>	61,723±5,598 <sup>a</sup>	61,694±5,013 <sup>a</sup>	61,223±6,558 <sup>a</sup>	47,807±3,215 <sup>b *</sup>	54,920±0,501 <sup>a</sup>	53,046±6,293 <sup>a</sup>	48,064±5,132 <sup>b *</sup>	52,048±3,452 <sup>a</sup>	56,134±4,387 <sup>a</sup>
<b>C 17:0</b>	0,552±0,026 <sup>c</sup>	0,354±0,003 <sup>d *</sup>	0,624±0,009 <sup>c</sup>	0,521±0,013 <sup>cd</sup>	0,576±0,106 <sup>c</sup>	0,464±0,090 <sup>cd</sup>	0,514±0,014 <sup>cd</sup>	0,659±0,020 <sup>bc</sup>	0,723±0,104 <sup>bc</sup>	0,816±0,040 <sup>b *</sup>	0,546±0,055 <sup>c</sup>	0,847±0,097 <sup>b *</sup>	1,093±0,039 <sup>a *</sup>
<b>C 18:0</b>	21,791±2,017 <sup>b</sup>	26,598±0,110 <sup>ab</sup>	31,859±0,987 <sup>a *</sup>	30,309±1,821 <sup>a *</sup>	21,296±1,793 <sup>b</sup>	21,785±3,715 <sup>b</sup>	26,113±1,268 <sup>ab</sup>	31,304±2,741 <sup>a *</sup>	25,692±2,570 <sup>ab</sup>	26,376±2,325 <sup>ab</sup>	30,045±2,011 <sup>a *</sup>	26,857±4,298 <sup>ab</sup>	21,645±1,098 <sup>b</sup>
<b>C 20:0</b>	0,410±0,054 <sup>b</sup>	0,342±0,011 <sup>b</sup>	0,385±0,023 <sup>b</sup>	0,340±0,057 <sup>b</sup>	0,846±0,075 <sup>a *</sup>	0,415±0,014 <sup>b</sup>	0,495±0,046 <sup>b</sup>	0,593±0,037 <sup>ab</sup>	0,591±0,119 <sup>ab</sup>	0,822±0,153 <sup>a *</sup>	0,587±0,076 <sup>ab</sup>	0,798±0,055 <sup>a *</sup>	0,985±0,244 <sup>a *</sup>
<b>C 21:0</b>	0,084±0,010 <sup>c</sup>	0,062±0,010 <sup>c</sup>	0,041±0,006 <sup>c</sup>	0,031±0,011 <sup>c</sup>	0,042±0,013 <sup>c</sup>	0,052±0,009 <sup>c</sup>	0,057±0,015 <sup>c</sup>	0,039±0,011 <sup>c</sup>	0,061±0,009 <sup>c</sup>	0,131±0,010 <sup>b *</sup>	0,021±0,012 <sup>c</sup>	0,089±0,010 <sup>c</sup>	0,573±0,099 <sup>a *</sup>
<b>C 22:0</b>	1,507±0,171 <sup>c</sup>	1,164±0,108 <sup>c</sup>	0,888±0,078 <sup>cd</sup>	0,606±0,094 <sup>d *</sup>	1,038±0,160 <sup>cd</sup>	1,624±0,226 <sup>c</sup>	1,047±0,135 <sup>cd</sup>	1,162±0,098 <sup>c</sup>	1,343±0,170 <sup>c</sup>	3,444±0,512 <sup>b *</sup>	1,984±0,158 <sup>c</sup>	2,063±0,236 <sup>c</sup>	4,372±0,372 <sup>a *</sup>
<b>C 23:0</b>	0,033±0,010 <sup>b</sup>	0,047±0,005 <sup>a *</sup>	<0,0001	<0,0001	0,002±0,000 <sup>c *</sup>	0,024±0,002 <sup>b</sup>	0,036±0,008 <sup>ab</sup>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Nd	Nd
<b>C 24:0</b>	0,118±0,039 <sup>b</sup>	0,130±0,016 <sup>b</sup>	0,044±0,012 <sup>c *</sup>	0,048±0,015 <sup>c *</sup>	0,061±0,021 <sup>c *</sup>	0,083±0,009 <sup>bc</sup>	0,094±0,016 <sup>bc</sup>	0,054±0,007 <sup>c *</sup>	0,093±0,016 <sup>bc</sup>	0,306±0,036 <sup>a *</sup>	Nd	Nd	Nd
<b>C 14:1</b>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	<0,0001	Nd	Nd	0,001±0,000 <sup>d</sup>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	<0,0001	0,001±0,000 <sup>d</sup>	<0,0001	<0,0001	0,762±0,045 <sup>a *</sup>	0,543±0,036 <sup>b *</sup>	0,275±0,028 <sup>c *</sup>
<b>C 15:1</b>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	<0,0001	Nd	Nd	0,001±0,000 <sup>d</sup>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	0,001±0,000 <sup>d</sup>	<0,0001	3,000±0,543 <sup>a *</sup>	1,986±0,121 <sup>b *</sup>	0,815±0,034 <sup>c *</sup>
<b>C 16:1 n-7</b>	1,520±0,172 <sup>a</sup>	0,522±0,030 <sup>c *</sup>	0,101±0,013 <sup>d *</sup>	0,041±0,007 <sup>d *</sup>	0,776±0,167 <sup>bc *</sup>	0,907±0,036 <sup>b *</sup>	0,710±0,058 <sup>bc *</sup>	0,397±0,043 <sup>c *</sup>	0,303±0,012 <sup>cd *</sup>	0,044±0,009 <sup>d *</sup>	0,918±0,099 <sup>b *</sup>	0,144±0,007 <sup>d *</sup>	0,125±0,009 <sup>d *</sup>
<b>C 17:1</b>	0,387±0,031 <sup>a</sup>	0,110±0,001 <sup>c *</sup>	0,001±0,000 <sup>d *</sup>	0,001±0,000 <sup>d *</sup>	0,161±0,038 <sup>b *</sup>	0,171±0,015 <sup>b *</sup>	0,094±0,023 <sup>c *</sup>	0,076±0,015 <sup>c *</sup>	0,049±0,009 <sup>c *</sup>	0,007±0,001 <sup>d *</sup>	0,010±0,002 <sup>d *</sup>	0,007±0,001 <sup>d *</sup>	0,001±0,000 <sup>d *</sup>
<b>C 18:1 n-9</b>	2,130±0,260 <sup>d</sup>	1,968±0,174 <sup>de</sup>	0,800±0,086 <sup>e *</sup>	0,794±0,102 <sup>e *</sup>	4,532±0,915 <sup>c *</sup>	2,227±0,219 <sup>d</sup>	2,191±0,087 <sup>d</sup>	9,958±0,766 <sup>a *</sup>	6,085±0,421 <sup>b *</sup>	3,849±0,176 <sup>c *</sup>	5,070±0,311 <sup>b *</sup>	3,849±0,453 <sup>c *</sup>	1,001±0,000 <sup>de</sup>
<b>C 20:1</b>	0,027±0,001 <sup>b</sup>	0,046±0,001 <sup>ab</sup>	0,007±0,002 <sup>c *</sup>	0,007±0,001 <sup>c *</sup>	0,028±0,004 <sup>b</sup>	0,036±0,004 <sup>b</sup>	0,043±0,017 <sup>ab</sup>	0,049±0,011 <sup>a *</sup>	0,040±0,008 <sup>ab</sup>	0,045±0,011 <sup>ab</sup>	0,003±0,000 <sup>c *</sup>	0,005±0,001 <sup>c *</sup>	0,008±0,002 <sup>c *</sup>
<b>C 22:1</b>	0,238±0,000 <sup>a</sup>	0,298±0,039 <sup>a</sup>	0,002±0,000 <sup>d *</sup>	0,007±0,000 <sup>d *</sup>	0,103±0,018 <sup>b *</sup>	0,183±0,027 <sup>a *</sup>	0,178±0,058 <sup>ab</sup>	0,010±0,000 <sup>c *</sup>	0,071±0,011 <sup>bc *</sup>	0,157±0,056 <sup>ab *</sup>	<0,0001	<0,0001	Nd
<b>C 18:2 n-3</b>	0,189±0,029 <sup>a</sup>	0,113±0,002 <sup>ab *</sup>	0,001±0,000 <sup>c *</sup>	<0,0001	0,167±0,095 <sup>a</sup>	0,229±0,035 <sup>a</sup>	0,198±0,021 <sup>a</sup>	0,112±0,013 <sup>ab *</sup>	0,156±0,031 <sup>ab *</sup>	0,072±0,010 <sup>b *</sup>	0,072±0,011 <sup>b *</sup>	0,051±0,000 <sup>c *</sup>	0,032±0,000 <sup>c *</sup>
<b>C 18:2 n-6</b>	0,190±0,018 <sup>a</sup>	0,115±0,001 <sup>ab</sup>	0,001±0,000 <sup>d *</sup>	<0,0001	0,166±0,065 <sup>ab</sup>	0,228±0,030 <sup>a</sup>	0,193±0,034 <sup>ab</sup>	0,118±0,09 <sup>b *</sup>	0,156±0,019 <sup>ab</sup>	0,069±0,007 <sup>c *</sup>	0,076±0,008 <sup>c *</sup>	0,021±0,000 <sup>cd *</sup>	0,013±0,000 <sup>cd *</sup>
<b>C 18:3 n-3</b>	1,702±0,303 <sup>a</sup>	1,050±0,038 <sup>b *</sup>	0,001±0,000 <sup>d *</sup>	0,001±0,000 <sup>e *</sup>	1,770±0,121 <sup>a</sup>	1,614±0,763 <sup>ab</sup>	1,295±0,052 <sup>ab</sup>	0,122±0,021 <sup>c *</sup>	0,194±0,087 <sup>c *</sup>	0,046±0,003 <sup>d *</sup>	0,046±0,005 <sup>d *</sup>	0,001±0,000 <sup>e *</sup>	<0,0001
<b>C 20:3 n-3</b>	0,005±0,000 <sup>a</sup>	0,001±0,000 <sup>b *</sup>	<0,0001	<0,0001	0,003±0,001 <sup>ab</sup>	0,005±0,002 <sup>a</sup>	0,004±0,001 <sup>a</sup>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Nd
<b>C 20:3 n-6</b>	0,009±0,000 <sup>b</sup>	0,005±0,001 <sup>c *</sup>	<0,0001	Nd	0,008±0,002 <sup>bc *</sup>	0,013±0,003 <sup>a *</sup>	0,008±0,001 <sup>b</sup>	0,001±0,000 <sup>d *</sup>	0,002±0,001 <sup>d *</sup>	<0,0001	<0,0001	Nd	Nd
<b>C 20:4 n-6</b>	0,015±0,004 <sup>a</sup>	0,007±0,001 <sup>a</sup>	<0,0001	<0,0001	0,012±0,006 <sup>a</sup>	0,016±0,004 <sup>a</sup>	0,015±0,007 <sup>a</sup>	0,001±0,000 <sup>b *</sup>	0,003±0,001 <sup>b *</sup>	0,001±0,000 <sup>b *</sup>	0,001±0,000 <sup>b *</sup>	<0,0001	<0,0001
<b>C 20:5 n-3</b>	0,058±0,008 <sup>a</sup>	0,039±0,003 <sup>ab</sup>	<0,0001	<0,0001	0,031±0,009 <sup>b *</sup>	0,054±0,019 <sup>a</sup>	0,032±0,006 <sup>b *</sup>	0,004±0,001 <sup>c *</sup>	0,007±0,002 <sup>c *</sup>	0,001±0,000 <sup>c *</sup>	0,001±0,000 <sup>c *</sup>	<0,0001	<0,0001
<b>SFAs</b>	95,500±2,944 <sup>a</sup>	95,758±1,360 <sup>a</sup>	99,176±2,678 <sup>a</sup>	99,147±3,873 <sup>a</sup>	94,2±8,560 <sup>a</sup>	93,313±9,200 <sup>a</sup>	95,311±8,809 <sup>a</sup>	89,170±6,548 <sup>a</sup>	92,936±5,332 <sup>a</sup>	95,402±10,650 <sup>a</sup>	89,586±7,930 <sup>a</sup>	92,912±8,880 <sup>a</sup>	97,849±7,240 <sup>a</sup>
<b>MUFAs</b>	2,411±0,464 <sup>c</sup>	2,944±0,245 <sup>c</sup>	0,911±0,101 <sup>d *</sup>	0,850±0,110 <sup>d *</sup>	5,602±1,142 <sup>b *</sup>	3,526±0,301 <sup>bc *</sup>	3,217±0,243 <sup>c</sup>	10,492±0,835 <sup>a *</sup>	6,549±0,461 <sup>b *</sup>	4,102±0,253 <sup>bc *</sup>	9,793±1,000 <sup>a *</sup>	6,534±0,619 <sup>b *</sup>	2,225±0,073 <sup>c</sup>
<b>PUFAs</b>	2,170±0,362 <sup>b</sup>	1,331±0,046 <sup>bc *</sup>	0,004±0,001 <sup>e *</sup>	0,002±0,001 <sup>e *</sup>	2,158±0,299 <sup>b</sup>	3,160±0,856 <sup>a *</sup>	1,746±0,122 <sup>bc</sup>	0,358±0,125 <sup>cd *</sup>	0,518±0,141 <sup>c *</sup>	0,189±0,020 <sup>d *</sup>	0,196±0,024 <sup>d *</sup>	0,073±0,000 <sup>e *</sup>	0,045±0,000 <sup>e *</sup>

Las letras (a-f) muestran las diferencias significativas entre tratamientos y tiempo de cocción según el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos muestran los valores medios (n=3) con desviación estándar (SD). (\*) Muestra las diferencias significativas entre la muestra cruda y los distintos tratamientos.



A excepción de la cocción al vapor, todos los tratamientos reducen considerablemente los niveles de los ácidos linolénico y linoleico hasta hacerlos prácticamente indetectables, al igual que ocurre con el resto de los PUFA. En la cocción al vapor el contenido en estos PUFA prácticamente se mantienen o disminuyen ligeramente (Costa *et al.*, 2015). Sin embargo, en tratamientos como la cocción al vacío a distintas temperaturas, al igual que con el resto de PUFA analizados, se produce una disminución importante de su contenido. Esto es debido a que los ácidos grasos insaturados son altamente susceptibles a la oxidación, sobre todo a altas temperaturas y altos tiempos de aplicación (Domínguez *et al.*, 2014; Jiménez-Monreal *et al.*, 2009).

#### 4.1.4.4. *Análisis sensorial descriptivo cuantitativo*

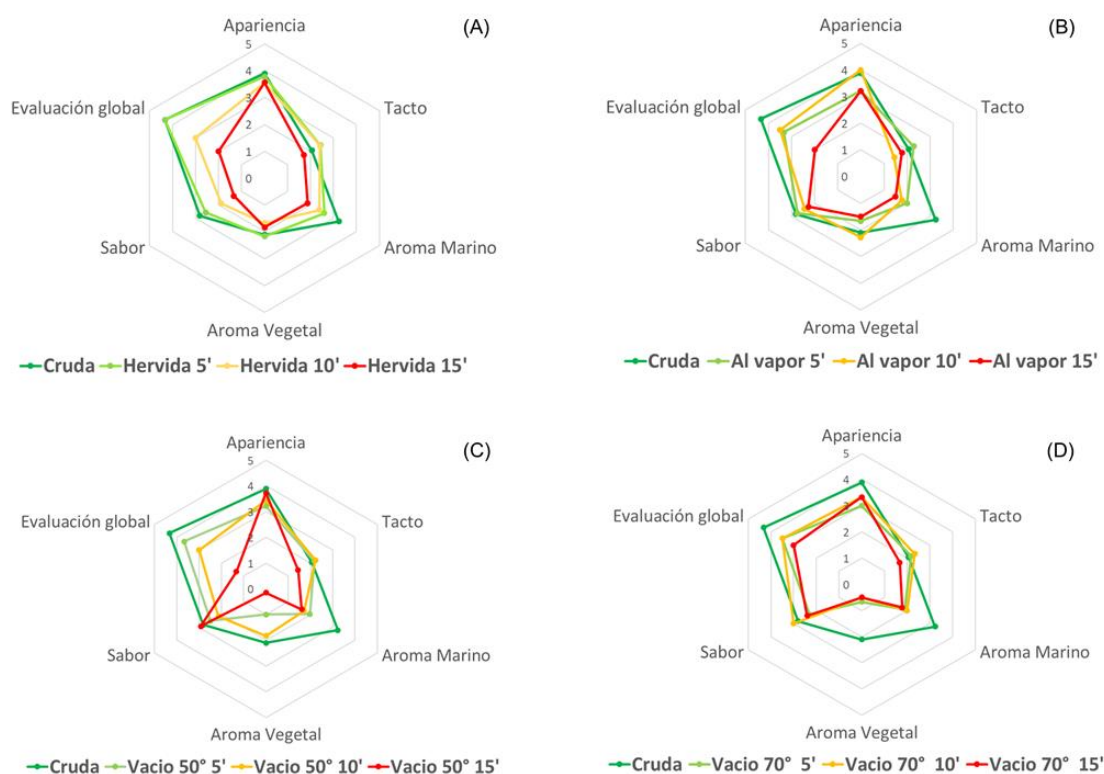
Atendiendo al perfil sensorial de *Ulva* sp. tras los procesos culinarios (Figura 4.1.7.), se puede observar que con todos los tratamientos de cocción se produce un cambio en dicho perfil, incluso a los 5 min de cocción y este cambio es más acusado cuanto mayor es la duración del tratamiento. Sin embargo, no todos los descriptores se ven igualmente afectados.

El hervido (Figura 4.1.7.A) parece ser el tratamiento que mejor conserva las características sensoriales generales y el aroma característico de *Ulva* sp., aunque a partir de los 10 min se produce ya una pérdida de sabor considerable, así como de su aspecto general, que influye negativamente en la evaluación global, efecto este que se acentúa a los 15 min de cocción.

Con el cocinado al vapor, en cambio, se conserva mejor el sabor, pero se pierde más rápidamente el aroma marino, la apariencia y, sobre todo, el aspecto general de *Ulva* sp., lo cual también afecta a la evaluación global. Los tratamientos de cocción al vacío (50 y 70 °C) tienen un efecto parecido sobre la apariencia, el tacto, el aroma marino y el sabor con independencia de la temperatura, produciéndose una pérdida de los mismos de forma gradual con el tiempo. Sin embargo, a 50 °C se denotan menos pérdidas del aroma vegetal que a 70 °C, aunque en este último caso, las valoraciones globales son más altas que las obtenidas a 50 °C, incluso a los 15 min de cocción.



Atendiendo a estos resultados, aunque desde el punto de vista nutricional, hemos podido constatar que el hervido afecta más a la composición nutricional de *Ulva* sp. que la cocción al vacío, desde el punto de vista sensorial ocurre todo lo contrario. A diferencia del resto de tratamientos, a los 5 min de hervido, el alga sigue manteniendo sus propiedades sensoriales características, principalmente en lo que a aroma marino y vegetal característico de esta especie se refiere.



**Figura 4.1.7.** Evolución del perfil sensorial de *Ulva* sp. frente a los distintos tratamientos de cocción: hervido (A), cocción al vapor (B), cocción al vacío a 50 °C (C) y cocción al vapor a 70 °C (D).

#### 4.1.4.5. Análisis de componentes principales

Para estudiar desde el punto de vista estadístico multivariante los resultados obtenidos se ha realizado un análisis de componentes principales (ACP). El ACP extrae 3 componentes principales según el criterio de Kaiser (valores propios > 1) (Tabla 4.1.4.). La componente principal 1 (CP1) que representa el 30,3% de la varianza total de los datos se correlaciona positivamente con el contenido en cenizas, proteínas, lípidos, ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) y macrominerales, y negativamente con el pH, la humedad y los ácidos grasos saturados (SFAs). CP1 cuantifica de manera general el valor

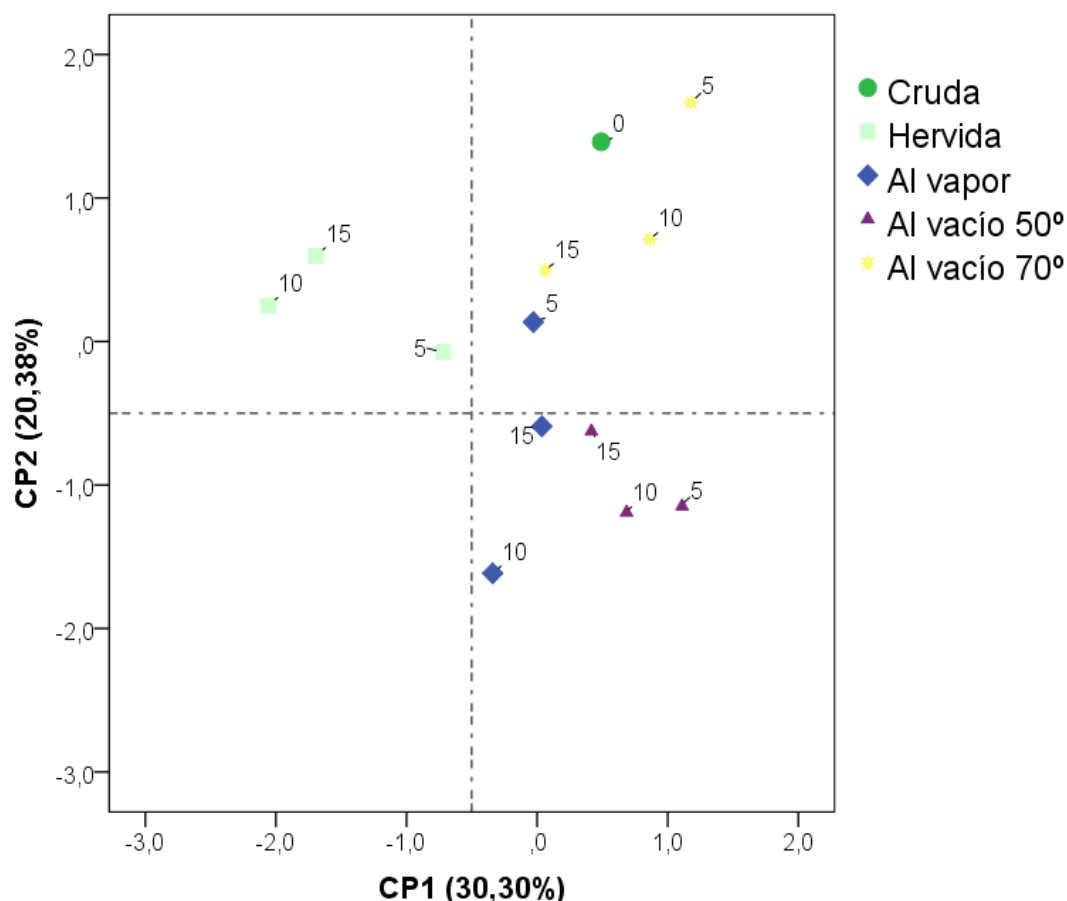
nutricional del alga y por ello F1 puede definirse como factor nutricional. La componente principal 2 (CP2) con un 20,38% de la varianza total, se correlaciona negativamente con la luminosidad y la coordenada CIElab  $a^*$  y, positivamente, con el croma ( $C^*$ ), la coordenada  $b^*$  y con un valor bajo con los micro minerales. CP2 determina los cambios en las coordenadas cromáticas y puede definirse como factor de color. Cuanto mayor es el valor de CP2 mayor será la intensidad del color verde/amarillo y más viveza tendrá. Por último, la componente principal 3 que explica un 15,67% de la varianza total, se correlaciona positivamente con los pigmentos (clorofilas y carotenoides), la capacidad antioxidante y la  $a_w$ , y negativamente (aunque con un valor bajo de carga factorial) con los PUFA. CP3 puede definirse como el factor funcional y de estabilidad del alga.

El diagrama de dispersión de las muestras en el plano definido por las componentes 1 y 2 (Figura 4.1.8.) que explican un 50,68% de la varianza acumulada, indica en primer lugar que los tratamientos de cocción al vacío a 50 y 70 °C (5 y 10 min), tienen valores del factor nutricional mucho más elevados que el resto de los tratamientos e incluso que el alga cruda. Queda de manifiesto con esto que la cocción al vacío es una técnica que respeta e incluso puede mejorar las características nutricionales del alga cruda.

**Tabla 4.1.4.** Puntuaciones de las componentes obtenidas en el Análisis de Componentes Principales (ACP) calculadas con el color, capacidad antioxidante, pigmentos, composición proximal, ácidos grasos y minerales de *Ulva* sp. cruda y cocinada.

	CP1	CP2	CP3
<b>Luminosidad (<math>L^*</math>)</b>	-0,203	-0,658	-0,243
<b>Croma (<math>C^*</math>)</b>	0,117	0,948	-0,186
<b><math>a^*</math></b>	0,065	-0,736	-0,495
<b><math>b^*</math></b>	0,115	0,944	-0,208
<b>Capacidad antioxidante</b>	-0,516	0,233	0,629
<b>Clorofilas</b>	-0,260	0,149	0,720
<b>Carotenoides</b>	0,014	-0,083	0,620
<b><math>A_w</math></b>	0,222	-0,270	0,604
<b>pH</b>	-0,936	0,132	0,220
<b>Humedad</b>	-0,688	0,033	0,215
<b>Cenizas</b>	0,666	0,317	-0,445
<b>Proteínas</b>	0,851	0,299	0,222
<b>Lípidos</b>	0,611	0,068	-0,147
<b>SFAs</b>	-0,812	0,151	-0,227
<b>MUFAs</b>	0,801	-0,089	0,396
<b>PUFAs</b>	0,011	-0,286	-0,523
<b>Macro-minerales</b>	0,665	0,213	-0,505
<b>Micro-minerales</b>	-0,266	0,589	0,021
<b>% Varianza acumulada</b>	30,30	50,68	66,35

Sin embargo, el resto de tratamientos (hervido y cocción al vapor) tienen, por el contrario, un impacto negativo en la composición nutricional, destacando especialmente el hervido que presenta valores de CP1 negativos y muy inferiores al del alga cruda. Las algas cocidas al vapor a diferentes tiempos se sitúan ligeramente por debajo del alga cruda pero siempre con valores positivos.



**Figura 4.1.8.** Análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de *Ulva* sp. crudas y cocinadas.

En segundo lugar, todos los tratamientos, a excepción de la cocción al vacío (70 °C, 5 min) disminuyen el factor color, o sea la tonalidad verdosa/amarilla, así como la viveza del color. Este efecto es más acusado en las algas cocidas al vapor y al vacío (50 °C). Las muestras del hervido, sin embargo, se situaron en el área negativa para CP1 y separadas del resto de tratamientos, situados estos últimos en el área negativa de CP2. Según estos resultados, el hervido es el tratamiento que mayor efecto tiene sobre la composición fisicoquímica del alga y la cocción al vacío a 70 °C la que menos afecta a la misma.

#### 4.1.5. Conclusiones

Atendiendo a los resultados obtenidos, los diferentes métodos de cocción empleados en este estudio modificaron significativamente la estructura, el color, la composición fisicoquímica y las características sensoriales de *Ulva* sp. El efecto sobre dicha composición dependió del tratamiento de cocción empleado, el tiempo de cocción y el tipo de compuesto o característica analizada. De todos los procesos, el hervido es el que produce los mayores cambios a lo largo del tiempo, destacando la ruptura de la estructura celular, que se percibe claramente al cabo de los 10 min, y la degradación de color y la pérdida de cenizas, proteínas, lípidos, MUFAs, PUFAs, K, Ca, Mg y Cu. El contacto del alga con el agua en ebullición puede favorecer las rupturas celulares y la migración de compuestos solubles. La cocción al vacío, sin embargo, es una técnica que respeta e incluso puede mejorar las características nutricionales del alga cruda.

Desde el punto de vista sensorial, todos los tratamientos van en detrimento de las características organolépticas del alga, acusándose el efecto con el tiempo de cocción. Sin embargo, los resultados obtenidos son contrarios a los esperados ya que las muestras sometidas a hervido durante tratamientos cortos fueron las mejor valoradas, sobre todo desde el punto de vista aromático. El sabor y el aroma marino, característicos de *Ulva* sp. evolucionan rápidamente durante el cocinado, fenómeno que habrá que tener en cuenta, además de sus propiedades nutricionales y funcionales a la hora de preparar platos o productos a base de esta especie.

### 4.1.6. Bibliografía

- Alves, R.N., Maulvault, A.L., Barbosa, V.L., Fernandez-Tejedor, M., Tediosi, A., Kotterman, M., Van den Heuvel, F.H.M., Robbens, J., Fernandes, J.O., Romme Rasmussen, R., Sloth, J.J., Marques, A., 2018. Oral bioaccessibility of toxic and essential elements in raw and cooked commercial seafood species available in European markets. *Food Chem.* 267, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.045>
- Amorim-Carrilho, K., Lage-Yusty, M.A., López-Hernández, J., 2014. Variation of bioactive compounds in dried seaweed *Himanthalia elongata* subjected to different culinary processes. *CYTA - J. Food* 12, 336–339. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.877082>
- Amorim, K., Lage-Yusty, M.A., López-Hernández, J., 2012. Short communication: Changes in bioactive compounds content and antioxidant activity of seaweed after cooking processing. *CYTA - J. Food* 10, 321–324. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.658871>
- AOAC, 2005. Official methods of analysis of AOAC. *AOAC INTERNATIONAL*, USA.
- Atlas, R.M., Bartha, R., Atlas, D., 1998. *Microbial ecology: fundamentals and applications*, 4th ed. Benjamin/Cummings Science Publishing, Menlo Park, CA, USA.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199–1200. <https://doi.org/10.2307/3280933>
- Burgos, G., Amoros, W., Salas, E., Muñoa, L., Sosa, P., Díaz, C., Bonierbale, M., 2012. Carotenoid concentrations of native Andean potatoes as affected by cooking. *Food Chem.* 133, 1131–1137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.002>
- Chan, P.T., Matanjun, P., 2017. Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Food Chem.* 221, 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.066>
- Chen, K., Roca, M., 2018. Cooking effects on chlorophyll profile of the main edible seaweeds. *Food Chem.* 266, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.040>
- Chitravathi, K., Chauhan, O.P., Raju, P.S., 2015. Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of green chillies (*Capsicum annuum* L.). *Food Packag. Shelf Life* 4, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.02.001>
- Choi, J. Il, Kim, H.J., Kim, J.H., Chun, B.S., Ahn, D.H., Kim, G.H., Lee, J.W., 2010. Changes in colour and antioxidant activities of *Hizikia fusiformis* cooking drips by gamma irradiation. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 1074–1078. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.012>
- Costa, S., Afonso, C., Cardoso, C., Batista, I., Chaveiro, N., Nunes, M.L., Bandarra, N.M., 2015. Fatty acids, mercury, and methylmercury bioaccessibility in salmon (*Salmo salar*) using an in vitro model: Effect of culinary treatment. *Food Chem.* 185, 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.141>
- Cox, S., Abu-Ghannam, N., Gupta, S., 2011. Effect of processing conditions on phytochemical constituents of edible Irish seaweed *Himanthalia elongata*. *J. Food Process. Preserv.* 36, 348–363. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00563.x>
- Cox, S., Gupta, S., Abu-Ghannam, N., 2012. Effect of different rehydration temperatures on the moisture, content of phenolic compounds, antioxidant capacity and textural properties of edible Irish brown seaweed. *LWT - Food Sci. Technol.* 47, 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.023>
- Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., Lorenzo, J.M., 2014. Influence of thermal treatment on formation of volatile compounds, cooking loss and lipid oxidation in foal meat. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.006>

- Fabbri, A.D.T., Crosby, G.A., 2016. A review of the impact of preparation and cooking on the nutritional quality of vegetables and legumes. *Int. J. Gastron. Food Sci.* 3, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2015.11.001>
- Florkiewicz, A., Socha, R., Filipiak-Florkiewicz, A., Topolska, K., 2018. Sous-vide technique as an alternative to traditional cooking methods in the context of antioxidant properties of Brassica vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 99, 173–182. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9158>
- García Sartal, C., Barciela Alonso, M. del C., Moreda Piñeiro, A., Bermejo Barrera, P., 2013. Study of cooking on the bioavailability of As, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Se and Zn from edible seaweed. *Microchem. J.* 108, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.003>
- Hidalgo, F.J., Zamora, R., 2017. Food Processing Antioxidants, 1st ed, *Advances in food and nutrition research*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.002>
- Holdt, S.L., Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.* <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Hosseini, H., Mahmoudzadeh, M., Rezaei, M., Mahmoudzadeh, L., Khaksar, R., Khosroshahi, N.K., Babakhani, A., 2014. Effect of different cooking methods on minerals, vitamins and nutritional quality indices of kutum roach (*Rutilus frisii kutum*). *Food Chem.* 148, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.012>
- Hwang, E.S., 2013. Composition of amino acids, minerals, and heavy metals in differently cooked laver (*Porphyra tenera*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42, 1270–1276. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.8.1270>
- Imsic, M., Winkler, S., Tomkins, B., Jones, R., 2010. Effect of storage and cooking on  $\beta$ -carotene isomers in carrots (*Daucus carota* L. cv. 'Stefano'). *J. Agric. Food Chem.* 58, 5109–5113. <https://doi.org/10.1021/jf904279j>
- Jiménez-Monreal, A.M., García-Diz, L., Martínez-Tomé, M., Mariscal, M., Murcia, M.A., 2009. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J. Food Sci.* 74, 97–103. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01091.x>
- Kao, F.J., Chiu, Y.S., Tsou, M.J., Chiang, W.D., 2012. Effects of Chinese domestic cooking methods on the carotenoid composition of vegetables in Taiwan. *LWT - Food Sci. Technol.* 46, 485–492. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.019>
- Kim, D.-O.O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3713–3717. <https://doi.org/10.1021/JF020071C>
- Kita, A., Bakowska-Barczak, A., Hamouz, K., Kułakowska, K., Lisińska, G., 2013. The effect of frying on anthocyanin stability and antioxidant activity of crisps from red- and purple-fleshed potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *J. Food Compos. Anal.* 32, 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.006>
- Kumar, P., Ramakritinan, C.M., Kumaraguru, A.K., 2010. Solvent extraction and spectrophotometric determination of pigments of some algal species from the shore of puthumadam, southeast coast of India. *Int. J. Ocean. Oceanogr.* 4, 29–34. [https://doi.org/10.1016/S0003-3928\(04\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3928(04)00041-1)
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Maehre, H.K., Edvinsen, G.K., Eilertsen, K.E., Elvevoll, E.O., 2016. Heat treatment increases the protein bioaccessibility in the red seaweed dulse (*Palmaria palmata*), but not in the brown seaweed winged kelp (*Alaria esculenta*). *J. Appl. Phycol.* 28, 581–590. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0587-4>

- Mæhre, H.K., Jensen, I.J., Eilertsen, K.E., 2016. Enzymatic pre-treatment increases the protein bioaccessibility and extractability in dulse (*Palmaria palmata*). *Mar. Drugs* 14. <https://doi.org/10.3390/md14110196>
- Maruti, A., Durán-Guerrero, E., Barroso, C.G., Castro, R., 2018. Optimization of a multiple headspace sorptive extraction method coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile compounds in macroalgae. *J. Chromatogr. A* 1551, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.011>
- McCauley, J.I., Meyer, B.J., Winberg, P.C., Skropeta, D., 2016. Parameters affecting the analytical profile of fatty acids in the macroalgal genus *Ulva*. *Food Chem.* 209, 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.039>
- McHugh, D.J., 2003. *A Guide to the Seaweed Industry*, FAO Fisheries Technical Paper. <https://doi.org/ISBN 92-5-104958-0>
- Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M., Heredia, F.J., 2007. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. Act. Fis. y fragilidad como indicadores Reserv. cardiorrespiratoria y Predict. del Pronost. Quir. Caracter. la Poblac. Quir. en Cir. Gen. y Dig. 57, 109–117.
- Mouritsen, O., 2013. *Seaweeds: edible, available, and sustainable*, The University of Chicago Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Mouritsen, O., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J.L., 2018a. The rise of seaweed gastronomy: phycogastronomy. *Bot. Mar. in press*.
- Mouritsen, O., Rhatigan, P., Pérez Lloréns, J.L., 2018b. World cuisine of seaweeds: Science meets gastronomy. *Int. J. Gastron. Food Sci.* 14, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.09.002>
- Mouritsen, O.G., 2012. The emerging science of gastrophysics and its application to the algal cuisine. *Flavour* 1, 6. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-6>
- Murphy, E.W., Criner, P.E., Gray, B.C., 1975. Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. *J. Agric. Food Chem.* 23, 1153–1157. <https://doi.org/10.1021/jf60202a021>
- Nieva-Echevarría, B., Manzanos, M.J., Goicoechea, E., Guillén, M.D., 2017. Changes provoked by boiling, steaming and sous-vide cooking in the lipid and volatile profile of European sea bass. *Food Res. Int.* 99, 630–640. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.043>
- Nitschke, U., Stengel, D.B., 2016. Quantification of iodine loss in edible Irish seaweeds during processing. *J. Appl. Phycol.* 28, 3527–3533. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0868-6>
- O'Connor, K., 2017. *Seaweed: A global history*. Reaktion Books, London.
- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernandez, J., Bozzo, C.E., Navarrete, C.E., Osorio, A., Rios, A., 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* y *Durvillaea antarctica*. *Food Chem.* 33, 575\_583. <https://doi.org/DOI 10.1016/j.foodchem.2005.07.027>
- Palermo, M., Pellegrini, N., Fogliano, V., 2014. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 94, 1057–1070. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6478>
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T.P., Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L.E., 2011. Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Food Chem.* 129, 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.104>
- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Vergara, J.J., Brun, F.G., León, Á., 2018. *Those curious and delicious seaweeds: A fascinating voyage from biology to gastronomy*. UCA Press.
- Pina, A.L., Costa, A.R., Lage-Yusty, M.A., López-Hernández, J., 2014. An evaluation of edible red seaweed (*Chondrus crispus*) components and their modification during the cooking process. *LWT - Food Sci. Technol.* 56, 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.006>

- Podsedeek, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. *LWT - Food Sci. Technol.* 40, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>
- Poelman, A.A.M., Delahunty, C.M., de Graaf, C., 2013. Cooking time but not cooking method affects children's acceptance of Brassica vegetables. *Food Qual. Prefer.* 28, 441–448. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.12.003>
- Rajauria, G., Jaiswal, A.K., Abu-Ghannam, N., Gupta, S., 2010. Effect of hydrothermal processing on colour, antioxidant and free radical scavenging capacities of edible Irish brown seaweeds. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 2485–2493. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02449.x>
- Rioux, L.-E.E., Beaulieu, L., Turgeon, S.L., 2017. Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. *Food Hydrocoll.* 68, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.005>
- Roy, M.K., Juneja, L.R., Isobe, S., Tsushida, T., 2009. Steam processed broccoli (*Brassica oleracea*) has higher antioxidant activity in chemical and cellular assay systems. *Food Chem.* 114, 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.050>
- Santaella, M., Periago, M.J., 2007. Comparación entre lubina (*Dicentrarchus labrax*) salvaje y cultivada: composición química y variación del contenido. 119, 105–119.
- Santoso, J., Gunji, S., Yoshie-Stark, Y., Suzuki, T., 2006. Mineral contents of indonesian seaweeds and mineral solubility affected by basic cooking. *Food Sci. Technol. Res.* 12, 59–66. <https://doi.org/10.3136/fstr.12.59>
- Schieber, A., Carle, R., 2005. Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological, analytical, and nutritional implications. *Trends Food Sci. Technol.* 16, 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.018>
- Sharma, K.D., Karki, S., Thakur, N.S., Attri, S., 2012. Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *J. Food Sci. Technol.* 49, 22–32. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0310-7>
- Silva, F.M., Silva, C.L.M., 1999. Colour changes in thermally processed cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) puree: Critical times and kinetics modelling. *Int. J. Food Sci. Technol.* 34, 87–94. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00246.x>
- Weber, J., Bochi, V.C., Ribeiro, C.P., Victório, A. de M., Emanuelli, T., 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. *Food Chem.* 106, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.052>
- Wong, F.-C., Chai, T.-T., Xiao, J., 2018. The influences of thermal processing on phytochemicals and possible routes to the discovery of new phytochemical conjugates. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 8398, 1–6. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1479681>
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H., 2011. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chem.* 128, 895–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.114>
- Zhao, C., Liu, Y., Lai, S., Cao, H., Guan, Y., San Cheang, W., Liu, B., Zhao, K., Miao, S., Riviere, C., Capanoglu, E., Xiao, J., 2019. Effects of domestic cooking process on the chemical and biological properties of dietary phytochemicals. *Trends Food Sci. Technol.* 85, 55–66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.004>



## Índice de figuras

<b>Figura 4.1.1.</b> Proceso de cocción y medidas directas del estudio .....	171
<b>Figura 4.1.2.</b> Fotografías a microscopio óptico (1000x) de <i>Ulva</i> sp. ....	175
<b>Figura 4.1.3.</b> Cambio de color (A), contenido en clorofilas (B), carotenoides (C) y capacidad antioxidante (D) de <i>Ulva</i> sp. crudas y procesadas térmicamente .....	176
<b>Figura 4.1.4.</b> Porcentaje de retención de macro-minerales Na (A), K (B), Ca(C) y Mg (D) en <i>Ulva</i> sp. después de los tratamientos de cocción .....	183
<b>Figura 4.1.5.</b> Porcentaje de retención de micro-minerales Fe (A), Cu (B) y Zn (C) en <i>Ulva</i> sp. después de los tratamientos de cocción .....	184
<b>Figura 4.1.6.</b> Porcentaje de retención de ácidos grasos SFA (A), MUFA (B) y PUFA (C) en <i>Ulva</i> sp. después de los tratamientos de cocción .....	186
<b>Figura 4.1.7.</b> Evolución del perfil sensorial de <i>Ulva</i> sp. frente a los distintos tratamientos de cocción .....	190
<b>Figura 4.1.8.</b> Análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de <i>Ulva</i> sp. crudas y cocinadas .....	192

## Índice de tablas

<b>Tabla 4.1.1.</b> Comparativa entre la muestra cruda y las obtenidas con los distintos tratamientos de cocción en los parámetros $a_w$ pH y la composición proximal .....	183
<b>Tabla 4.1.2.</b> Contenido en minerales en las muestras crudas y cocinadas de <i>Ulva</i> sp. ....	182
<b>Tabla 4.1.3.</b> Contenido de ácidos grasos en las muestras crudas y cocinadas .....	190
<b>Tabla 4.1.4.</b> Análisis de componentes principales .....	191





## Capítulo 4.2

### Efectos de diferentes métodos de cocción en los compuestos volátiles y características sensoriales de *Ulva* sp. de estero



Imagen del XI Congreso de Ficología de Latinoamérica y el Caribe, Cali (2017)

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 4.2



# INDICE

<b>4.2. Efectos de diferentes métodos de cocción en los compuestos volátiles y características sensoriales de <i>Ulva</i> sp. de estero</b>	205
<b>4.2.1. Resumen</b>	205
<b>4.2.2. Introducción</b>	206
<b>4.2.3. Material y métodos</b>	206
4.2.3.1. <i>Algas y tratamientos de cocción</i>	206
4.2.3.3. <i>Análisis de compuestos volátiles</i>	207
4.2.4.3. <i>Extracción múltiple por absorción en espacio de cabeza y condiciones de GC/MS</i>	207
4.2.4.4. <i>Análisis sensorial descriptivo cuantitativo</i>	207
4.2.4.5. <i>Análisis estadístico</i>	207
<b>4.2.4. Resultados y discusión</b>	208
4.2.4.1. <i>Compuestos volátiles</i>	208
4.2.4.2. <i>Relación entre los compuestos volátiles y el análisis sensorial</i>	215
<b>4.2.5. Conclusiones</b>	222
<b>4.2.6. Bibliografía</b>	223
 <b>Índice de figuras</b>	226
<b>Índice de tablas</b>	226



## **4.2. Efectos de diferentes métodos de cocción en los compuestos volátiles y características sensoriales de *Ulva* sp. de estero**

### **4.2.1. Resumen**

En el presente trabajo se ha evaluado el efecto de diferentes métodos de cocción (hervido, al vapor y al vacío) sobre los compuestos volátiles y las propiedades sensoriales del alga marina conocida comercialmente como lechuga de mar (*Ulva* sp.). La lechuga de mar se cocinó a tres temperaturas (50, 70 y 100 °C) durante tres tiempos diferentes (5, 10 y 15 min). Para determinar los posibles cambios producidos por la temperatura y el tiempo de cocción se emplearon diferentes técnicas estadísticas.

Los diferentes métodos de cocción modificaron significativamente tanto el contenido en compuestos volátiles como las propiedades sensoriales de la lechuga de mar. En general, se observaron concentraciones más bajas de varios compuestos volátiles en las muestras cocinadas, principalmente aldehídos. Asimismo, dichas muestras presentaron valores más bajos en el análisis sensorial para varios descriptores del aroma, como "algas marinas" y "costa/roca", mientras que los descriptores "crustáceos", "pescado cocido", "seco" y "salado" fueron más altos. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tiempos y temperaturas de cocción según los compuestos volátiles y las propiedades sensoriales estudiadas. Sin embargo, se observó que, en la cocción de la lechuga de mar, los principales cambios sensoriales y modificaciones en su contenido volátil se presentaron durante los primeros minutos de tratamiento y a temperaturas medias.



### 4.2.2. Introducción

Cabe destacar que, en relación a los compuestos volátiles y sus modificaciones con los tratamientos térmicos de cocción, existe muy poca información al respecto. Se han encontrado más de 150 compuestos volátiles diferentes en especies de algas deshidratadas, destacando los hidrocarburos, seguido de los alcoholes, ácidos carboxílicos, aldehídos y cetonas (López-Pérez *et al.*, 2017), ésteres, ácidos grasos y compuestos halogenados o de azufre (Ferraces-Casais *et al.*, 2013). La composición en compuestos volátiles depende de la especie, el momento de la recolección, el origen geográfico y las condiciones ambientales, como se refleja en diversos trabajos previos (Ferraces-Casais *et al.*, 2013; Maruti *et al.*, 2018; Sugisawa *et al.*, 1990), pero son pocos los estudios sobre el posible efecto de los métodos de manipulación y procesado. Según Pina *et al.* (2014), los tratamientos culinarios tales como la hidratación, la ebullición y el cocinado al vapor modifican de forma significativa la composición volátil de las algas. En este trabajo se encontraron 22 compuestos volátiles tanto en algas secas como en las tratadas al vapor, mientras que tan solo se encontraron 19 en las algas hidratadas y 11 en las hervidas.

En este trabajo se han estudiado los cambios y modificaciones que se producen en los componentes volátiles del alga *Ulva* sp. cuando se somete a diferentes procesos de cocción (hervido, al vapor y cocción al vacío). Se evaluaron tres tiempos (5, 10 y 15 min) y tres temperaturas de cocción diferentes (50, 70 y 100 °C). También se realizó un análisis estadístico para establecer posibles relaciones entre los compuestos volátiles analizados y los atributos evaluados en el análisis sensorial descriptivo.

### 4.2.3. Material y métodos

#### 4.2.3.1. Algas y tratamientos de cocción

Se utilizaron las mismas algas y, por tanto, la misma metodología descrita en el capítulo 4.1, en los apartados 4.1.3.1. y 4.1.3.2.

#### *4.2.3.3. Análisis de compuestos volátiles*

Se han estudiado cuarenta compuestos volátiles pertenecientes a diferentes familias químicas: sulfuro de dimetilo, 2-heptenal, 1-octen-3-ol, safranal, acetato de etilo, hexanal, 5-metilfurfural, alfa ionona, 2-hexenal, 2,4- heptadienal, 6-metil-5-hepten-2-ona, furfural, ácido isovalérico, tetradecano, heptadecano, betaciclocitral, acetato de hexilo, heptanal, 2-pentil furano, octanal, 2-etil hexanol, ácido propanoico, 2- nonenal, 2-undecanona, isopropil palmitato, etil palmitato, dietil succinato, alcohol bencílico, fenol, ácido nonanoico, ácido hexanoico, 6-metil-2-heptanona, 1-butanol, ácido octanoico, benzaldehído, ácido acético, beta ionona, dimetil sulfóxido y acetato de 2-feniletilo. Los estándares se adquirieron, con fines de identificación y cuantificación, en Merck KGaA (Darmstadt, Alemania), Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.) y Fluka (Buchs, Suiza) y todos presentaron purezas superiores al 99%.

#### *4.2.4.3. Extracción múltiple por absorción en espacio de cabeza y condiciones de GC/MS*

Se ha utilizado la misma metodología descrita en el capítulo 3.2., en el apartado 3.2.3.3.

#### *4.2.4.4. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo*

Es la misma metodología descrita en el capítulo 4.1, en el apartado 4.1.3.8., puesto que en este caso tan solo se realiza un análisis estadístico de los resultados del análisis sensorial descriptivo obtenido en el capítulo anterior, para determinar si existe relación con los diferentes compuestos volátiles.

#### *4.2.4.5. Análisis estadístico*

Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA unifactorial para cada una de las variables independientes definidas: tiempo de cocción, temperatura de cocción y tipo de cocción. Para determinar las diferencias entre los tratamientos se empleó el test de Tukey. Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) y un análisis de

conglomerados (CA). Todos ellos se llevaron a cabo utilizando el paquete informático Statgraphics Centurion, versión 17.0 (Statpoint Technologies, Inc, The Plains, VA, EE. UU.) para Windows 8.1. Los datos fueron estandarizados (media/ desviación estándar).

#### 4.2.4. Resultados y discusión

##### 4.2.4.1. Compuestos volátiles

Los valores medios en función de los tres factores considerados: temperatura de cocción, tiempo de cocción, y tipo de cocción, se muestran en las Tablas 4.2.1., 4.2.2. y 4.2.3. respectivamente. Se han cuantificado un total de cuarenta compuestos volátiles en las diferentes muestras estudiadas. De manera general, además de sulfuro de dimetilo, sulfóxido de dimetilo y acetato de etilo, también se han determinado un alto número de aldehídos. Los aromas herbáceos y picantes están asociados a aldehídos de cadena lineal y ramificada, mientras que los aldehídos insaturados proporcionan notas a vegetales y a pescado (Giri *et al.*, 2010). Pina *et al.* (2014) observaron en algas rojas (*Chondrus crispus*) que aldehídos, hidrocarburos y alcoholes conformaban las principales clases de volátiles. Las concentraciones más altas se han encontrado para hexanal y heptanal, después del sulfuro de dimetilo, acetato de etilo y palmitato de etilo. Hexanal ha sido identificado como el compuesto volátil predominante en diferentes especies de algas marinas (López-Pérez *et al.*, 2017). El principal hidrocarburo determinado ha sido heptadecano, identificado previamente por otros autores en algas pardas y rojas, (Kamenarska *et al.*, 2002; Pina *et al.*, 2014). En cuanto a los alcoholes, la concentración más elevada se corresponde con 1-butanol, también encontrado en las muestras secas de alga roja *Chondrus crispus*, junto al 1-octen-3-ol y otros alcoholes (Pina *et al.*, 2014).

La mayoría de estos compuestos se vieron afectados por la temperatura, el tiempo y el tipo de cocción empleados, como muestra el análisis de la varianza realizado para cada uno de estos factores ( $p < 0,05$ ). En general, se observan concentraciones más bajas para aquellas muestras sometidas a diferentes temperaturas y tiempos de cocción (Tabla 4.2.1. y Tabla 4.2.2., respectivamente), pero no se aprecian disminuciones claras en el contenido de compuestos volátiles a medida que aumentan los valores de temperatura o tiempo.

**Tabla 4.2.1.** Valores medios ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ) y desviaciones estándar encontradas en las muestras cocinadas a diferentes temperaturas.

Compuestos	Temperatura de cocción ( °C)			
	Cruda	50	70	100
sulfuro de metilo*	141,81 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	12,46 $\pm$ 6,66 <sup>b,c</sup>	22,84 $\pm$ 9,12 <sup>c</sup>	3,79 $\pm$ 7,17 <sup>b</sup>
acetato de etilo	1479,64 $\pm$ 602,24	640,00 $\pm$ 605,75	291,86 $\pm$ 826,85	812,80 $\pm$ 373,62
hexanal	1022,98 $\pm$ 10,52 <sup>a</sup>	604,28 $\pm$ 95,33 <sup>b</sup>	492,00 $\pm$ 12,12 <sup>b</sup>	554,34 $\pm$ 63,10 <sup>b</sup>
1-butanol	2633,16 $\pm$ 1581,68 <sup>a</sup>	786,22 $\pm$ 332,11 <sup>a,b</sup>	486,24 $\pm$ 123,65 <sup>b</sup>	609,78 $\pm$ 322,11 <sup>b</sup>
heptanal	1132,12 $\pm$ 6,04	691,54 $\pm$ 252,70	886,76 $\pm$ 280,27	1387,84 $\pm$ 1064,41
2-hexenal	< LD	< LD	< LD	< LD
2-pentil furano	< LD	11,20 $\pm$ 122,97	< LD	< LD
6-metil-2-heptanona	69,62 $\pm$ 12,47	29,28 $\pm$ 14,25	427,94 $\pm$ 256,49	275,64 $\pm$ 367,48
acetato de hexilo	308,62 $\pm$ 163,68	1881,84 $\pm$ 1151,81	1800,06 $\pm$ 1358,19	1646,36 $\pm$ 1057,46
octanal	107,24 $\pm$ 1,63	81,38 $\pm$ 43,10	292,30 $\pm$ 129,10	200,92 $\pm$ 242,54
2-heptenal	9,10 $\pm$ 0,16	< LD	< LD	< LD
6-metil-5-hepten-2-ona	< LD	< LD	< LD	21,86 $\pm$ 28,89
nonanal	873,86 $\pm$ 35,41	544,98 $\pm$ 182,48	585,98 $\pm$ 134,99	692,08 $\pm$ 333,00
tetradecano	1,78 $\pm$ 0,16	1,06 $\pm$ 0,50	0,58 $\pm$ 0,06	0,88 $\pm$ 0,27
ácido acético	9,82 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,84 $\pm$ 1,33 <sup>a,b</sup>	3,42 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>	5,78 $\pm$ 1,28 <sup>a,b</sup>
1-octen-3-ol	199,40 $\pm$ 0,59	197,34 $\pm$ 6,67	191,40 $\pm$ 0,29	193,92 $\pm$ 1,54
furfural	11,00 $\pm$ 2,84 <sup>a</sup>	5,88 $\pm$ 1,87 <sup>a,b</sup>	3,18 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>	5,18 $\pm$ 1,29 <sup>a,b</sup>
2,4-heptadienal	18,20 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	6,88 $\pm$ 1,96 <sup>b</sup>	6,04 $\pm$ 0,59 <sup>b</sup>	6,48 $\pm$ 1,95 <sup>b</sup>
2-etil hexanol	220,34 $\pm$ 9,61	205,68 $\pm$ 13,03	350,62 $\pm$ 103,39	514,98 $\pm$ 341,34
benzaldehído	200,78 $\pm$ 35,87 <sup>a</sup>	88,00 $\pm$ 23,46 <sup>b</sup>	58,18 $\pm$ 5,91 <sup>c</sup>	87,84 $\pm$ 44,87 <sup>b</sup>
ácido propanoico	74,32 $\pm$ 31,35	< LD	< LD	< LD
2-nonenal	279,36 $\pm$ 25,03	323,28 $\pm$ 41,89	254,26 $\pm$ 66,46	211,90 $\pm$ 39,25
5-metil furfural	370,18 $\pm$ 0,73	369,22 $\pm$ 1,53	367,98 $\pm$ 0,92	370,44 $\pm$ 6,94
dimetilsulfóxido	2016,26 $\pm$ 48,29 <sup>a</sup>	1207,24 $\pm$ 81,11 <sup>b</sup>	1051,94 $\pm$ 18,95 <sup>b,c</sup>	1021,60 $\pm$ 45,23 <sup>b</sup>
2-undecanone	275,16 $\pm$ 0,21	249,36 $\pm$ 3,98	269,30 $\pm$ 18,26	261,38 $\pm$ 10,93
beta ciclocitral	1,98 $\pm$ 0,15	< LD	< LD	< LD
safranal	205,42 $\pm$ 1,71	190,82 $\pm$ 3,59	273,32 $\pm$ 73,22	276,76 $\pm$ 111,82
ácido isovalérico	2,50 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	1,30 $\pm$ 0,44 <sup>a,b</sup>	0,80 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	0,54 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>
succinato de dietilo	0,60 $\pm$ 0,02	0,70 $\pm$ 0,07	0,56 $\pm$ 0,01	0,68 $\pm$ 47,41
heptadecano	311,88 $\pm$ 228,38	263,04 $\pm$ 84,56	125,60 $\pm$ 10,67	139,86 $\pm$ 47,41
acetato 2-feniletilo	224,62 $\pm$ 15,35	434,58 $\pm$ 138,13	252,92 $\pm$ 85,67	1351,82 $\pm$ 1296,41
ácido hexanoico	92,42 $\pm$ 4,20 <sup>a</sup>	30,90 $\pm$ 22,26 <sup>b</sup>	1,62 $\pm$ 3,27 <sup>b,c</sup>	< LD
alfa ionona	501,20 $\pm$ 135,29	653,24 $\pm$ 151,77	402,00 $\pm$ 56,45	628,32 $\pm$ 183,22
alcohol de benzilo	51,72 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	30,32 $\pm$ 1,32 <sup>c</sup>	30,12 $\pm$ 0,30 <sup>c</sup>	38,48 $\pm$ 3,26 <sup>b</sup>
beta ionona	4,24 $\pm$ 0,19	1,50 $\pm$ 0,70	8,90 $\pm$ 5,44	5,40 $\pm$ 2,18
fenol	113,76 $\pm$ 0,55	94,32 $\pm$ 5,83	171,74 $\pm$ 40,00	199,68 $\pm$ 142,49
ácido octanoico	7,68 $\pm$ 0,40	2,44 $\pm$ 0,79	1,82 $\pm$ 0,33	3,50 $\pm$ 2,18
ácido nonanoico	33,62 $\pm$ 0,06	30,58 $\pm$ 0,40	30,36 $\pm$ 0,09	31,82 $\pm$ 0,71
palmitato de isopropilo	11,10 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	1,30 $\pm$ 0,31 <sup>b</sup>	1,86 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	1,90 $\pm$ 0,64 <sup>b</sup>
palmitato de etilo	1765,96 $\pm$ 30,38	1430,16 $\pm$ 15,52	1410,32 $\pm$ 7,01	1757,92 $\pm$ 408,38

\* mg kg<sup>-1</sup> algas liofilizadas.

&lt; LD, por debajo del límite de detección.

a, b, c Letras diferentes para la misma fila indican diferencias significativas según el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.2.2.** Valores medios ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ) y desviaciones estándar encontradas en las muestras a diferentes tiempos de cocción.

Compuestos	Tiempo de cocción (min)			
	0	5	10	15
sulfuro de dimetilo*	141,81 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	< LD	10,02 $\pm$ 7,77 <sup>b,c</sup>	22,00 $\pm$ 9,00 <sup>b</sup>
acetato de etilo	1479,64 $\pm$ 602,24	853,32 $\pm$ 626,85	426,6 $\pm$ 580,21	752,56 $\pm$ 512,96
hexanal	1022,98 $\pm$ 10,52 <sup>a</sup>	643,62 $\pm$ 94,28 <sup>b</sup>	503,26 $\pm$ 29,54 <sup>b</sup>	495,6 $\pm$ 21,79 <sup>b</sup>
1-butanol	2633,16 $\pm$ 1581,68 <sup>a</sup>	710,82 $\pm$ 391,04 <sup>b</sup>	771,44 $\pm$ 282,50 <sup>a,b</sup>	416,36 $\pm$ 95,22 <sup>b</sup>
heptanal	1132,12 $\pm$ 6,04	853,78 $\pm$ 218,44	1682,08 $\pm$ 1281,68	524,22 $\pm$ 195,15
2-hexenal	< LD	< LD	< LD	< LD
2-pentil furano	< LD	< LD	73,14 $\pm$ 131,2	< LD
6-metil-2-heptanona	69,62 $\pm$ 12,47	483,38 $\pm$ 459,46	43,52 $\pm$ 32,94	167,56 $\pm$ 186,56
acetato de hexilo	308,62 $\pm$ 163,68	1775,34 $\pm$ 1281,15	3041,9 $\pm$ 1241,52	367,48 $\pm$ 253,38
octanal	107,24 $\pm$ 1,63	418,1 $\pm$ 282,59	31,98 $\pm$ 17,61	95,26 $\pm$ 76,08
2-heptenal	9,11 $\pm$ 0,67	< LD	< LD	< LD
6-metil-5-hepten-2-ona	< LD	< LD	< LD	18,06 $\pm$ 33,54
nonanal	873,86 $\pm$ 35,41	939,5 $\pm$ 86,31	404,42 $\pm$ 60,37	511,04 $\pm$ 122,12
tetradecano	1,78 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	1,34 $\pm$ 0,45 <sup>b</sup>	0,62 $\pm$ 0,08 <sup>b,c</sup>	0,58 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>
ácido acético	9,82 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,81 $\pm$ 1,54 <sup>a,b</sup>	5,72 $\pm$ 1,23 <sup>a,b</sup>	4,26 $\pm$ 0,77 <sup>b</sup>
1-octen-3-ol	199,40 $\pm$ 0,59	197,88 $\pm$ 5,59	192,68 $\pm$ 1,41	192,24 $\pm$ 0,74
furfural	11,00 $\pm$ 2,84 <sup>a</sup>	4,08 $\pm$ 0,94 <sup>b</sup>	4,12 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>	6,32 $\pm$ 1,99 <sup>a,b</sup>
2,4-heptadienal	18,2 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	6,68 $\pm$ 2,29 <sup>b</sup>	4,94 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	6,70 $\pm$ 1,60 <sup>b</sup>
2-etil hexanol	220,34 $\pm$ 9,61	253,78 $\pm$ 66,65	652,38 $\pm$ 401,6	206,70 $\pm$ 22,34
benzaldehído	200,78 $\pm$ 35,87 <sup>a</sup>	82,14 $\pm$ 22,88 <sup>a,b</sup>	52,34 $\pm$ 10,54 <sup>b</sup>	98,38 $\pm$ 52,43 <sup>a,b</sup>
ácido propanoico	74,32 $\pm$ 31,35 <sup>a</sup>	< LD	< LD	< LD
2-nonenal	279,36 $\pm$ 25,03	236,66 $\pm$ 47,37	299,38 $\pm$ 67,21	207,26 $\pm$ 27,47
5-metil furfural	370,18 $\pm$ 0,73	374,51 $\pm$ 8,71	367,24 $\pm$ 0,37	372,48 $\pm$ 0,93
dimetilsulfóxido	2016,26 $\pm$ 48,29 <sup>a</sup>	1107,12 $\pm$ 88,43 <sup>b</sup>	1054,54 $\pm$ 54,03 <sup>b</sup>	1049,08 $\pm$ 49,45 <sup>b</sup>
2-undecanone	275,16 $\pm$ 0,21	254,46 $\pm$ 5,16	274,78 $\pm$ 18,11	248,18 $\pm$ 4,34
B- ciclocitral	1,98 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	< LD	< LD	< LD
safranal	205,42 $\pm$ 1,71	287,61 $\pm$ 123,4	196,58 $\pm$ 9,10	236,31 $\pm$ 66,74
ácido isovalérico	2,51 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	0,86 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>	0,72 $\pm$ 0,37 <sup>b</sup>	0,82 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>
succinato de dietilo	0,61 $\pm$ 0,02	0,66 $\pm$ 0,06	0,64 $\pm$ 0,04	0,66 $\pm$ 0,05
heptadecano	311,88 $\pm$ 228,38	228,46 $\pm$ 88,32	136,2 $\pm$ 36,67	128,28 $\pm$ 24,51
acetato 2-feniletilo	224,62 $\pm$ 15,35	249,31 $\pm$ 56,90	366,94 $\pm$ 142,33	1639,92 $\pm$ 1563,03
ácido hexanoico	92,42 $\pm$ 4,20 <sup>a</sup>	12,26 $\pm$ 22,85 <sup>b</sup>	< LD	< LD
A- ionona	501,2 $\pm$ 135,29	630,26 $\pm$ 154,20	570,18 $\pm$ 87,45	494,26 $\pm$ 212,97
alcohol de benzilo	51,72 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	36,96 $\pm$ 3,94 <sup>b</sup>	32,74 $\pm$ 2,00 <sup>b</sup>	33,10 $\pm$ 3,07 <sup>b</sup>
B- ionona	4,24 $\pm$ 0,19	2,54 $\pm$ 0,90	7,14 $\pm$ 4,53	5,08 $\pm$ 3,25
fenol	113,76 $\pm$ 0,55	234,14 $\pm$ 172,65	121,24 $\pm$ 38,44	118,68 $\pm$ 21,87
ácido octanoico	7,68 $\pm$ 0,40	2,32 $\pm$ 0,79	1,92 $\pm$ 0,26	3,80 $\pm$ 2,65
ácido nonanoico	33,62 $\pm$ 0,06	31,58 $\pm$ 0,82	30,84 $\pm$ 0,30	30,78 $\pm$ 0,58
palmitato de isopropilo	11,11 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	2,64 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>	1,92 $\pm$ 0,38 <sup>b,c</sup>	1,02 $\pm$ 0,31 <sup>c</sup>
palmitato de etilo	1765,96 $\pm$ 30,38	1810,28 $\pm$ 500,46	1450,18 $\pm$ 48,57	1433,74 $\pm$ 38,97

\* mg Kg<sup>-1</sup> algas liofilizadas

&lt; LD, por debajo del límite de detección

a, b, c Letras diferentes para la misma fila indican diferencias significativas según el tiempo de almacenamiento (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Compuestos tales como 1-octen-3-ol, 2-undecanona, succinato de dietilo, 5-metilfurfural y ácido nonanoico no se ven afectados por los factores de temperatura y tiempo (Tabla 4.2.1. y Tabla 4.2.2.), mostrando en todos los casos valores medios similares y bajas desviaciones estándar. Estos cinco compuestos, según la información obtenida a partir de Chemicalbook, son térmicamente estables, lo que podría explicar su alta resistencia a las condiciones de cocción. Los resultados son similares a los obtenidos en trabajos previos relacionados con procesos de cocción en muestras de macroalgas. En estos estudios, realizados con algas rojas, las muestras secas presentaron un mayor número de compuestos volátiles que las muestras cocinadas (Pina *et al.*, 2014) o sometidas a un proceso de secado a 28 °C durante 72 horas (Song *et al.*, 2018). Además, se observó un mayor número de aldehídos después de diferentes procesos de cocción en comparación con las muestras secas (Pina *et al.*, 2014), mientras que alcoholes y ácidos disminuyeron, encontrándose sólo etanol y 1-penten-3-ol en las muestras cocidas.

En relación con los derivados norisoprenoides ( $\alpha$  y  $\beta$ -ionona), este tipo de compuestos solo se han encontrado en muestras sometidas a diferentes tratamientos culinarios (rehidratados, cocidas en agua hirviendo durante 20-30 minutos o cocidas al vapor durante 30 minutos) y no en algas secas (Pina *et al.*, 2014). En el presente trabajo, tanto  $\alpha$ -ionona como  $\beta$ -ionona no muestran una tendencia clara con el aumento de la temperatura o el tiempo de cocción, presentando las muestras cocidas valores estadísticamente similares a los encontrados en la muestra cruda (control).

Sobre el tipo de cocción (Tabla 4.2.3.), en general, no se encontraron diferencias significativas entre los tres procesos de cocción estudiados (hervido, al vapor y al vacío), incluso cuando los valores de temperatura empleados en la cocción al vacío fueron inferiores a los utilizados en el caso de los tratamientos de hervido y al vapor.

**Tabla 4.2.3.** Valores medios ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ) y desviaciones estándar encontradas en las muestras cocinadas en diferentes condiciones.

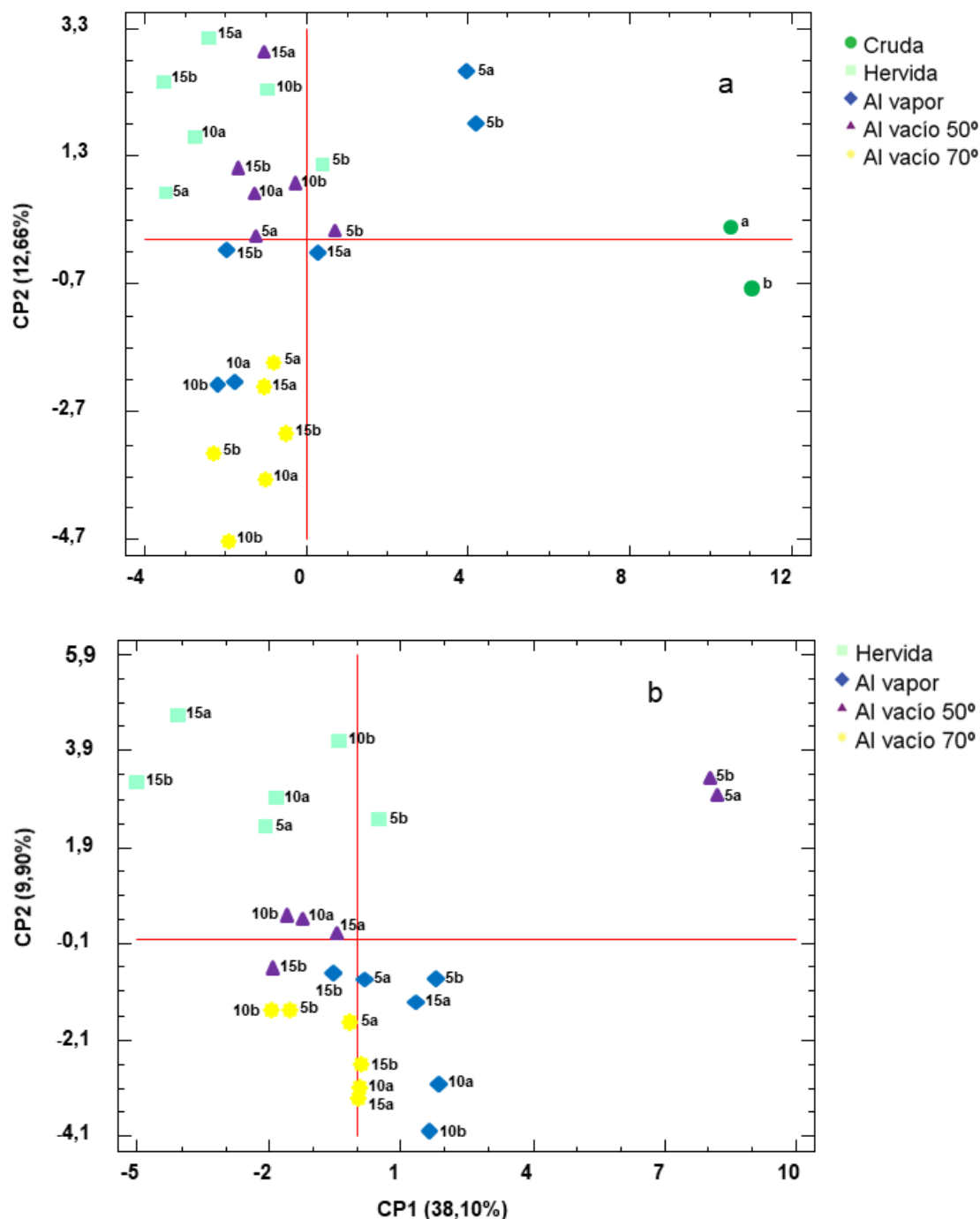
Compuestos	Tipo de cocción			
	Cruda	Hervida	Al vapor	Al vacío
sulfuro de dimetilo*	141,81 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	< LD	9,98 $\pm$ 8,14 <sup>b,c</sup>	17,65 $\pm$ 8,08 <sup>c</sup>
acetato de etilo	1479,64 $\pm$ 602,24	659,76 $\pm$ 351,95	1118,34 $\pm$ 389,47	465,92 $\pm$ 697,01
hexanal	1022,98 $\pm$ 10,52 <sup>a</sup>	507,26 $\pm$ 40,05 <sup>b</sup>	586,44 $\pm$ 78,84 <sup>b</sup>	548,14 $\pm$ 71,11 <sup>b</sup>
1-butanol	2633,16 $\pm$ 1581,68 <sup>a</sup>	524,02 $\pm$ 193,76 <sup>b</sup>	735,00 $\pm$ 429,00 <sup>a,b</sup>	636,22 $\pm$ 251,43 <sup>b</sup>
heptanal	1132,12 $\pm$ 6,04	1673,22 $\pm$ 1529,71	828,58 $\pm$ 213,33	789,16 $\pm$ 259,48
2-hexenal	< LD	< LD	< LD	< LD
2-pentil furano	< LD	< LD	24,76 $\pm$ 221,76	< LD
6-metil-2-heptanona	69,62 $\pm$ 12,47	28,26 $\pm$ 8,44	440,48 $\pm$ 521,09	228,6 $\pm$ 202,07
acetato de hexilo	308,62 $\pm$ 163,68	491,32 $\pm$ 497,37	2601,02 $\pm$ 1432,55	1849,14 $\pm$ 1162,92
octanal	107,24 $\pm$ 1,63	36,1 $\pm$ 20,43	317,34 $\pm$ 342,25	186,84 $\pm$ 107,02
2-heptenal	9,10 $\pm$ 0,16	< LD	< LD	< LD
6-metil-5-hepten-2-ona	< LD	62,48 $\pm$ 36,63	< LD	< LD
nonanal	873,86 $\pm$ 35,41	505,62 $\pm$ 101,47	836,71 $\pm$ 466,06	565,48 $\pm$ 153,40
tetradecano	1,78 $\pm$ 0,16	0,68 $\pm$ 0,12	1,04 $\pm$ 0,36	0,82 $\pm$ 0,36
ácido acético	9,82 $\pm$ 0,02	5,82 $\pm$ 1,55	6,26 $\pm$ 1,09	5,14 $\pm$ 1,31
1-octen-3-ol	199,40 $\pm$ 0,59	195,18 $\pm$ 1,54	193,18 $\pm$ 1,50	194,36 $\pm$ 4,76
furfural	11,00 $\pm$ 2,84 <sup>a</sup>	5,82 $\pm$ 1,76 <sup>a,b</sup>	4,52 $\pm$ 0,56 <sup>a,b</sup>	4,52 $\pm$ 1,48 <sup>b</sup>
2,4-heptadienal	18,20 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	4,02 $\pm$ 2,29 <sup>b</sup>	7,46 $\pm$ 1,17 <sup>b</sup>	6,46 $\pm$ 1,41 <sup>b</sup>
2-etil hexanol	220,34 $\pm$ 9,61	593,48 $\pm$ 485,29	334,02 $\pm$ 103,56	278,16 $\pm$ 79,80
benzaldehído	200,78 $\pm$ 35,87	94,90 $\pm$ 64,13	69,41 $\pm$ 14,84	73,10 $\pm$ 18,08
ácido propanoico	74,32 $\pm$ 31,35	< LD	< LD	< LD
2-nonenal	279,36 $\pm$ 25,03	195,00 $\pm$ 27,65	218,50 $\pm$ 50,42	288,78 $\pm$ 55,95
5-metil furfural	370,18 $\pm$ 0,73	378,11 $\pm$ 9,74	370,34 $\pm$ 1,45	368,60 $\pm$ 1,25
dimetilsulfóxido	2016,26 $\pm$ 48,29 <sup>a</sup>	944,12 $\pm$ 24,29 <sup>b</sup>	1077,70 $\pm$ 35,11 <sup>b,c</sup>	1129,58 $\pm$ 69,27 <sup>c</sup>
2-undecanone	275,16 $\pm$ 0,21	257,48 $\pm$ 14,15	260,42 $\pm$ 7,84	259,34 $\pm$ 13,63
beta ciclocitral	1,98 $\pm$ 0,15	< LD	< LD	< LD
safranal	205,42 $\pm$ 1,71	184,60 $\pm$ 0,99	307,92 $\pm$ 143,81	232,06 $\pm$ 53,92
ácido isovalérico	2,50 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	0,44 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	0,68 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	1,06 $\pm$ 0,37 <sup>b</sup>
succinato de dietilo	0,60 $\pm$ 0,02	0,68 $\pm$ 0,04	0,66 $\pm$ 0,04	0,64 $\pm$ 0,06
heptadecano	311,88 $\pm$ 228,38	86,58 $\pm$ 40,15	182,04 $\pm$ 44,34	194,32 $\pm$ 67,75
acetato 2-feniletilo	224,62 $\pm$ 15,35	1701,92 $\pm$ 1813,70	618,82 $\pm$ 481,69	343,74 $\pm$ 119,41
ácido hexanoico	92,42 $\pm$ 4,20	< LD	< LD	16,26 $\pm$ 16,99
alfa ionona	501,20 $\pm$ 135,29	516,92 $\pm$ 137,66	687,44 $\pm$ 224,82	527,62 $\pm$ 127,37
alcohol de benzilo	51,72 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	38,22 $\pm$ 3,13 <sup>b</sup>	38,40 $\pm$ 3,69 <sup>b</sup>	30,22 $\pm$ 0,92 <sup>c</sup>
beta ionona	4,24 $\pm$ 0,19	4,21 $\pm$ 2,82	5,11 $\pm$ 1,54	5,21 $\pm$ 4,17
fenol	113,76 $\pm$ 0,55	105,64 $\pm$ 12,51	260,36 $\pm$ 202,28	133,02 $\pm$ 33,93
ácido octanoico	7,68 $\pm$ 0,40	4,12 $\pm$ 3,09	2,30 $\pm$ 0,62	2,12 $\pm$ 0,60
ácido nonanoico	33,62 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	31,42 $\pm$ 0,63 <sup>a,b</sup>	31,92 $\pm$ 0,81 <sup>a,b</sup>	30,46 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>
palmitato de isopropilo	11,10 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	2,36 $\pm$ 0,65 <sup>b</sup>	1,9 $\pm$ 0,68 <sup>b</sup>	1,58 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>
palmitato de etilo	1765,96 $\pm$ 30,38	1514,68 $\pm$ 61,30	1903,78 $\pm$ 583,47	1420,24 $\pm$ 12,59

\* mg Kg<sup>-1</sup>

&lt; LD, por debajo del límite de detección

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>, <sup>c</sup> Letras diferentes para la misma fila indican diferencias significativas según el tiempo de almacenamiento (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Para llevar a cabo el estudio de los resultados desde una perspectiva estadística multivariante, los datos medios de cada proceso de cocción se sometieron al análisis de componentes principales (ACP) (Figura 4.2.1.), extrayéndose 10 componentes principales (CP) según el criterio de Kaiser.



**Figura 4.2.1.** Análisis de componentes principales para compuestos volátiles. Distribución de las muestras en el plano definido por CP1 y CP2. (a) todas las muestras y (b) sin la muestra cruda (control).



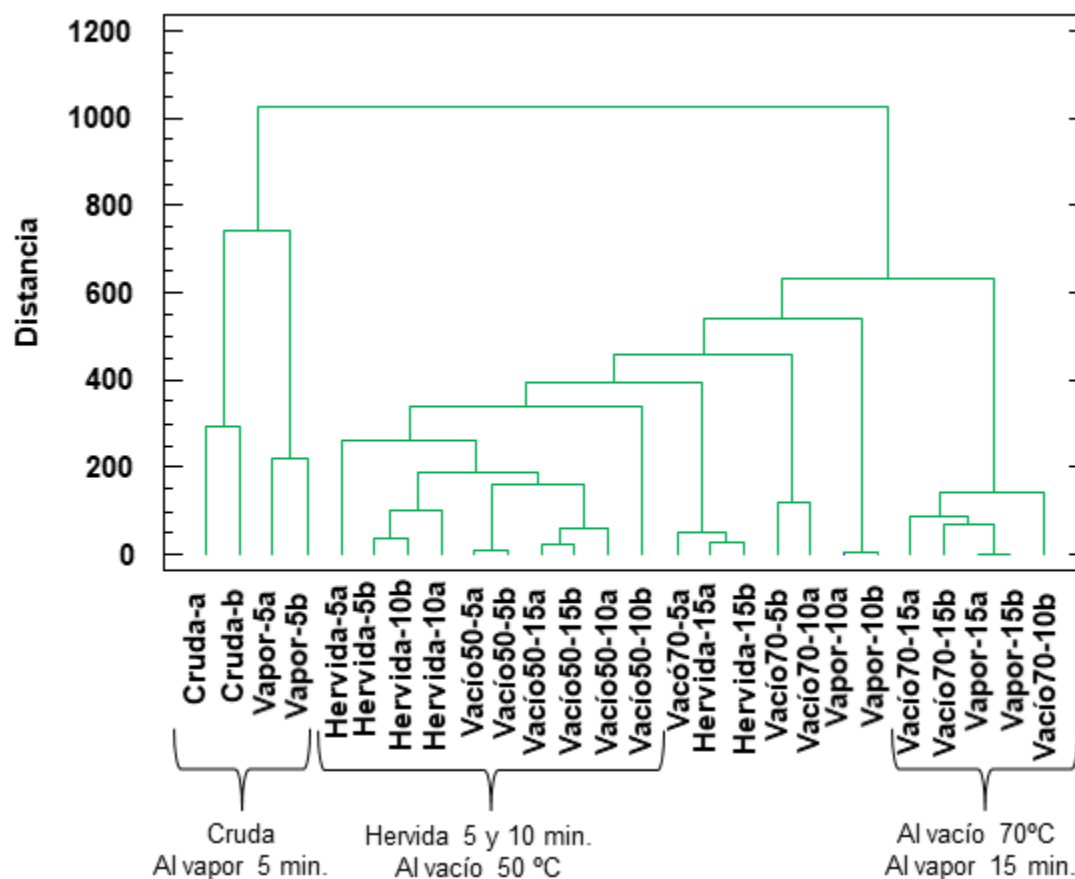
La componente principal 1 (CP 1; 34,09% de la variabilidad total) se ve afectada principalmente por varios aldehídos con valores positivos como hexanal, 2-hexenal, 2-heptenal, 2,4-heptadienal, benzaldehído además de por sulfóxido de dimetilo, ácido hexanoico, ácido nonanoico y palmitato de isopropilo. En cuanto a la componente principal 2 (CP 2; 12,66% de la variabilidad total), se observa que está influenciada negativamente por heptanal, 2-etil hexanol, 2-undecona y  $\beta$ -ionona y positivamente por succinato de dietilo.

El diagrama de dispersión de las muestras en el plano definido por las dos primeras CP (Figura 4.2.1.a) sitúa a las muestras crudas en el área positiva para CP1, mientras que el resto de las muestras presentan, en general, valores negativos para esta componente principal. Además, cabe destacar que las muestras cocinadas al vapor durante 5 min se encuentran en una posición intermedia entre ambas. Como se puede observar, no se obtiene una separación clara según el tiempo, la temperatura o el tipo de cocción, por lo que se ha realizado un nuevo análisis de componentes principales considerando solo las muestras después de la cocción (Figura 4.2.1b).

En este caso, CP1 y CP2 explican el 48% de la variabilidad total entre las muestras con hexanal, 2-hexenal, 2-heptenal, tetradecano y heptadecano para CP1 y sulfuro de dimetilo, ácido hexanoico y alcohol bencílico para CP2, como los compuestos volátiles con más peso para las dos primeras componentes principales, respectivamente. Las muestras hervidas y cocidas al vapor durante 5 min presentan claramente valores positivos para CP2, mientras que las restantes se sitúan en la zona con valores negativos para esta CP.

Para poder determinar si existen posibles agrupamientos entre los distintos tratamientos, se ha llevado a cabo un análisis clúster jerárquico tomando el cuadrado de la distancia euclidiana como métrica y el método Ward como regla de agrupamiento. El dendograma obtenido se muestra en la Figura 4.2.2. Como se puede observar, se aprecian dos grupos principales: un grupo para muestras crudas y muestras al vapor durante 5 min, y un grupo con el resto de muestras. En este último grupo, se pueden diferenciar dos subgrupos: uno para aquellas muestras hervidas por cortos períodos de tiempo y cocinadas al vacío a baja temperatura; y otro para las muestras cocinadas al vacío a alta temperatura o sometidas a cocción al vapor durante largos períodos de tiempo (15 min.). Los grupos formados reflejaron que tanto la

temperatura como el tiempo contribuyen a los cambios en el contenido en compuestos volátiles sin una clara diferenciación entre los tipos de cocción.



**Figura 4.2.2.** Dendrograma obtenido de las muestras sometidas a distintos tiempos y tratamientos de cocción en función de compuestos aromáticos.

#### 4.2.4.2. Relación entre los compuestos volátiles y el análisis sensorial

En primer lugar, los resultados del análisis sensorial descriptivo obtenidos en el capítulo anterior (4.1.4.4.) se someten a un ANOVA ( $p < 0,05$ ) para determinar si existe relación entre los diferentes descriptores sensoriales y los compuestos volátiles. Para ello, se estudian los factores de la misma forma que se han considerado previamente para los compuestos volátiles: temperatura, tiempo y tipo de cocción. Los valores medios para todos los descriptores y los resultados del estudio ANOVA se muestran en las Tablas 4.2.4., 4.2.5. y 4.2.6, para temperatura, tiempo y tipo de cocción, respectivamente.

**Tabla 4.2.4.** Valores medios y desviaciones estándar para los descriptores sensoriales según la temperatura. Estudio ANOVA.

Descriptores	Temperatura de cocción ( °C)			
	Cruda	50	70	100
<b>Apariencia</b>				
Aspecto general	4,6±0,6 <sup>a</sup>	3,4±0,7 <sup>b</sup>	3,6±0,7 <sup>a,b</sup>	3,7±0,7 <sup>a,b</sup>
Intensidad de color	4,2±0,8	4,0±0,7	3,7±0,6	3,7±0,7
Brillo	2,8±0,4	3,0±1,1	2,7±0,6	3,1±0,7
<b>Sabor</b>				
Intensidad a pescado	1,2±0,8	2,1±0,9	1,9±1,1	1,4±1,0
Intensidad a vegetal	4,4±0,5 <sup>a</sup>	2,7±1,1 <sup>b</sup>	2,7±0,9 <sup>b</sup>	2,2±1,1 <sup>b</sup>
Masticabilidad	2,2±0,8	2,9±0,9	2,5±1,0	2,8±0,8
Dureza	1,4±0,9	2,6±1,2	2,3±1,1	2,0±0,8
Persistencia	4,2±0,8 <sup>a</sup>	2,3±1,1 <sup>b</sup>	2,7±1,1 <sup>a,b</sup>	2,4±1,1 <sup>b</sup>
Intensidad global	4,0±1,0 <sup>a</sup>	2,8±1,1 <sup>a,b</sup>	2,8±0,9 <sup>a,b</sup>	2,4±1,2 <sup>b</sup>
<b>Textura</b>				
Dureza	2,4±0,5	2,1±0,8	1,8±0,9	2,2±0,8
Pegajosidad	1,2±0,8	1,9±1,1	1,7±0,9	1,8±1,1
Elasticidad	2,6±0,5	2,8±1,0	2,3±0,7	2,6±0,7
<b>Aroma</b>				
Pescado fresco	2,6±1,8 <sup>a</sup>	2,1±0,9 <sup>a,b</sup>	1,6±1,0 <sup>a,b</sup>	1,3±0,9 <sup>b</sup>
Pescado cocinado	0,0±0,0 <sup>a</sup>	1,5±1,0 <sup>b</sup>	1,5±1,2 <sup>b</sup>	0,7±0,8 <sup>a,b</sup>
Pescado seco/salado	0,6±0,9	2,0±1,5	1,0±0,8	1,3±1,3
Algas	4,4±0,5 <sup>a</sup>	3,1±1,0 <sup>a,b</sup>	2,2±1,2 <sup>b</sup>	2,9±1,1 <sup>b</sup>
Moluscos	0,8±1,3 <sup>a</sup>	2,8±1,1 <sup>b</sup>	2,1±1,1 <sup>a,b</sup>	1,2±1,1 <sup>a</sup>
Crustáceos	0,0±0,0 <sup>a</sup>	1,9±0,8 <sup>b</sup>	1,7±0,7 <sup>b,c</sup>	1,1±0,9 <sup>c</sup>
Costa/roca	3,4±0,5 <sup>a</sup>	2,3±0,8 <sup>a,c</sup>	0,7±1,0 <sup>b</sup>	1,7±1,2 <sup>c</sup>
Hierba fresca	1,2±1,3 <sup>a</sup>	1,4±1,1 <sup>a</sup>	1,7±1,2 <sup>a,b</sup>	0,8±0,8 <sup>a,c</sup>
Verduras crudas	1,4±0,5	2,1±1,5	1,7±1,2	1,6±1,1
Verduras cocinadas	0,6±0,9 <sup>a</sup>	1,3±1,0 <sup>a,b</sup>	2,4±1,4 <sup>b</sup>	1,7±1,1 <sup>a,b</sup>
Champiñones	0,4±0,5	1,1±1,2	1,1±0,8	0,8±1,1
<b>Evaluación global</b>	4,4±0,5 <sup>a</sup>	2,9±1,0 <sup>b</sup>	3,5±0,6 <sup>a,b</sup>	3,1±0,9 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup> Letras diferentes para la misma fila indican diferencias significativas según el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Como se puede observar, se obtienen pocas variaciones estadísticas para los descriptores relacionados con la apariencia y el tacto. Sin embargo, los descriptores asociados con el sabor y el aroma se ven afectados significativamente por los tres factores considerados. El factor que revela ser el más significativo respecto a la muestra cruda (control) fue el tipo de cocción (Tabla 2.4.6.), pero pocos descriptores muestran diferencias estadísticas entre los tres tipos de cocción según el test de Tukey. En cuanto a los descriptores de sabor, intensidad vegetal e intensidad global, así como persistencia disminuyen después de la cocción, mientras que intensidad a pescado y dureza aumentan. En el caso de los descriptores del aroma, los aromas a pescado cocido, pescado seco o salado y crustáceos aumentan, con valores más altos para aquellas muestras cocinadas al vapor o al vacío. Los descriptores de aromas a mar (costa/roca) y a algas disminuyen en las muestras cocinadas. El descriptor de evaluación global disminuye después de la cocción sin diferencias estadísticas entre los tres tipos específicos de cocción.

En el caso de la temperatura (Tabla 4.2.4.), algunos descriptores (intensidad a vegetal, intensidad global, sabor a pescado fresco y algas marinas y aroma a costa/roca) muestran disminuciones significativas con respecto a la muestra control. Sin embargo, los descriptores de aromas a pescado cocido, moluscos, vegetales cocidos y crustáceos aumentan. En general, varios descriptores del aroma y del sabor se ven influenciados significativamente por el factor de temperatura, con diferencias significativas entre las muestras crudas y las muestras cocinadas. No obstante, no se observan diferencias entre las distintas muestras cocinadas bajo los diferentes rangos de temperatura estudiados.

Para el factor tiempo se observan resultados similares (Tabla 4.2.5.), sin diferencias sensoriales entre las muestras cocinadas para los diferentes períodos de tiempo. Estos resultados podrían revelar que, en el caso de las algas, los principales cambios sensoriales que se producen durante su cocción tienen lugar durante los primeros minutos y a temperaturas medias.

**Tabla 4.2.5.** Valores medios y desviaciones estándar para los descriptores sensoriales según el tiempo. Estudio ANOVA.

Descriptores	Tiempo de cocción (min)			
	0	5	10	15
<b>Apariencia</b>				
Aspecto general	4,6±0,5	3,6±0,6	3,8±0,8	3,6±0,9
Intensidad de color	4,2±0,8	3,8±0,5	3,6±0,6	4,1±0,8
Brillo	2,8±0,4	3,0±0,8	3,0±0,8	3,0±0,9
<b>Sabor</b>				
Intensidad a pescado	1,2±0,8	1,9±1,1	1,5±1,0	1,7±1,1
Intensidad a vegetal	4,4±0,5 <sup>a</sup>	2,8±0,9 <sup>b</sup>	2,6±0,9 <sup>b</sup>	2,1±1,3 <sup>b</sup>
Masticabilidad	2,2±0,8	2,7±0,7	2,6±0,8	3,1±1,1
Dureza	1,4±0,9	2,2±1,1	2,3±0,9	2,4±1,0
Persistencia	4,2±0,8 <sup>a</sup>	2,5±1,0 <sup>b</sup>	2,8±1,0 <sup>a,b</sup>	2,1±1,2 <sup>b</sup>
Intensidad global	4,0±1,0 <sup>a</sup>	2,8±0,9 <sup>a,b</sup>	2,8±0,8 <sup>a,b</sup>	2,2±1,3 <sup>b</sup>
<b>Textura</b>				
Dureza	2,4±0,5 <sup>a,b</sup>	2,0±0,8 <sup>a</sup>	2,6±0,8 <sup>b</sup>	1,7±0,7 <sup>a</sup>
Pegajosidad	1,2±0,8	1,9±1,1	1,9±0,9	1,8±1,0
Elasticidad	2,6±0,5	2,8±0,6	2,5±0,8	2,5±0,9
<b>Aroma</b>				
Pescado fresco	2,6±1,8	1,7±0,7	1,7±1,0	1,3±1,1
Pescado cocinado	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,6±0,8 <sup>a</sup>	1,4±1,3 <sup>b,c</sup>	1,3±0,8 <sup>a,c</sup>
Pescado seco/salado	0,6±0,9	1,7±1,5	1,6±1,2	1,0±1,1
Algas	3,4±0,5 <sup>a</sup>	2,4±0,9 <sup>a,c</sup>	1,5±1,1 <sup>b,c</sup>	1,0±1,1 <sup>b</sup>
Moluscos	0,8±1,3	1,7±1,4	1,9±1,3	2,0±1,2
Crustáceos	0,0±0,0 <sup>a</sup>	1,7±1,1 <sup>b</sup>	1,4±0,7 <sup>b</sup>	1,4±1,0 <sup>b</sup>
Costa/roca	4,4±0,5 <sup>a</sup>	3,3±0,8 <sup>a</sup>	2,8±1,1 <sup>b</sup>	2,2±1,2 <sup>b</sup>
Hierba fresca	1,2±1,3	1,3±1,0	1,3±1,1	1,1±1,1
Verduras crudas	1,4±0,5	2,2±1,1	1,3±1,2	1,8±1,3
Verduras cocinadas	0,6±0,9	1,5±1,1	2,0±1,3	2,0±1,1
Champiñones	0,4±0,5	0,8±0,9	1,2±1,2	1,0±1,1
<b>Evaluación global</b>	4,4±0,5 <sup>a</sup>	3,4±0,8 <sup>a,b</sup>	2,8±0,9 <sup>b</sup>	3,5±0,8 <sup>a</sup>

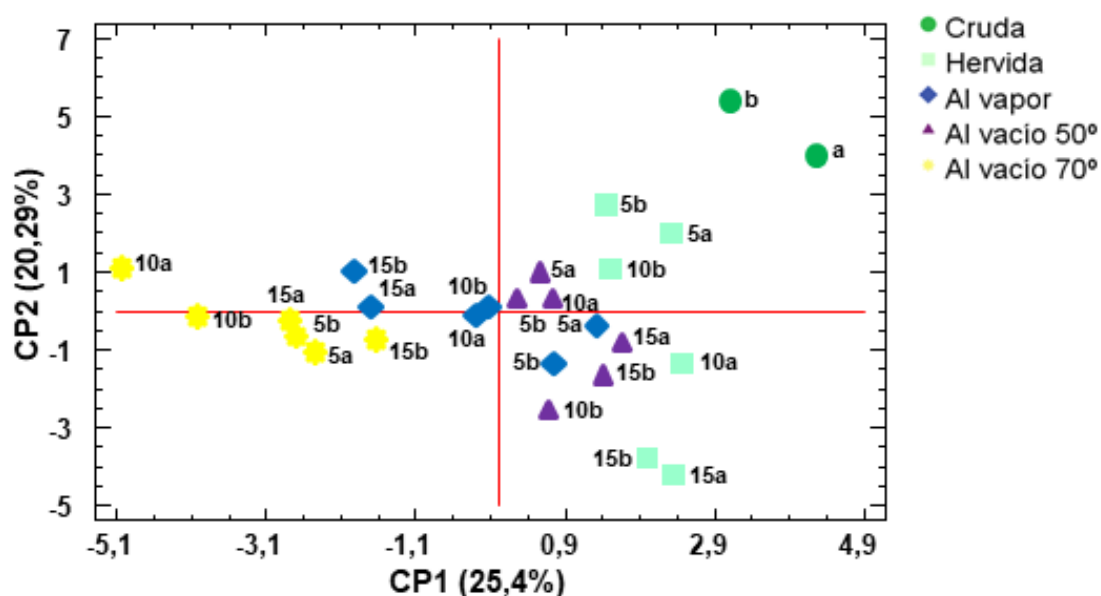
<sup>a, b, c</sup> Letras diferentes para la misma fila indican diferencias significativas según el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.2.6.** Valores medios y desviaciones estándar para los descriptores sensoriales según el tratamiento de cocción. Estudio ANOVA.

Descriptores	Tipo de cocción			
	Cruda	Hervida	Al vapor	Al vacío
<b>Apariencia</b>				
Aspecto general	4,6±0,6 <sup>a</sup>	4,0±0,7 <sup>a,b</sup>	3,5±1,0 <sup>b</sup>	3,5±0,7 <sup>b</sup>
Intensidad de color	4,2±0,8	3,7±0,6	3,8±0,8	3,9±0,6
Brillo	2,8±0,4	3,2±0,7	2,9±0,8	2,8±0,9
<b>Sabor</b>				
Intensidad a pescado	1,2±0,8 <sup>a,b</sup>	0,6±0,5 <sup>a</sup>	2,1±0,8 <sup>b</sup>	2,0±1,0 <sup>b</sup>
Intensidad a vegetal	4,4±0,5 <sup>a</sup>	1,9±1,3 <sup>b</sup>	2,5±0,8 <sup>b</sup>	2,7±1,0 <sup>b</sup>
Masticabilidad	2,2±0,8	2,7±0,7	2,7±1,0	2,8±0,8
Dureza	1,4±0,9 <sup>a</sup>	1,9±0,7 <sup>b</sup>	2,1±0,9 <sup>b</sup>	2,5±1,1 <sup>b</sup>
Persistencia	4,2±0,8 <sup>a</sup>	2,4±1,1 <sup>b</sup>	2,4±1,1 <sup>b</sup>	2,5±1,1 <sup>b</sup>
Intensidad global	4,0±1,0 <sup>a</sup>	2,0±1,3 <sup>b</sup>	2,8±0,9 <sup>a,b</sup>	2,8±1,0 <sup>a,b</sup>
<b>Textura</b>				
Dureza	2,4±0,5	2,4±1,0	2,0±0,7	1,9±0,8
Pegajosidad	1,2±0,8	1,5±1,0	2,2±1,0	1,8±1,0
Elasticidad	2,6±0,5	2,5±0,5	2,7±0,8	2,6±0,9
<b>Aroma</b>				
Pescado fresco	2,6±1,8 <sup>a</sup>	1,2±1,0 <sup>b</sup>	1,4±0,7 <sup>a,b</sup>	1,8±0,9 <sup>a,b</sup>
Pescado cocinado	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,4±0,8 <sup>a</sup>	1,0±0,8 <sup>a,b</sup>	1,5±1,0 <sup>b</sup>
Pescado seco/salado	0,6±0,9 <sup>a,b</sup>	0,6±0,8 <sup>a</sup>	2,0±1,4 <sup>b</sup>	1,5±1,3 <sup>a,b</sup>
Algas	4,4±0,5 <sup>a</sup>	2,6±1,2 <sup>b</sup>	3,1±1,0 <sup>a,b</sup>	2,7±1,2 <sup>b</sup>
Moluscos	0,8±1,3 <sup>a,b</sup>	1,7±1,2 <sup>a,c</sup>	0,7±0,7 <sup>b</sup>	2,5±1,2 <sup>c</sup>
Crustáceos	0,0±0,0 <sup>a</sup>	0,7±0,8 <sup>a</sup>	1,5±0,9 <sup>b</sup>	1,8±0,7 <sup>b</sup>
Costa/roca	3,4±0,5 <sup>a</sup>	2,0±1,1 <sup>a,b</sup>	1,5±1,2 <sup>b</sup>	1,5±1,2 <sup>b</sup>
Hierba fresca	1,2±1,3 <sup>a,b</sup>	0,6±0,9 <sup>a</sup>	1,1±0,6 <sup>a,b</sup>	1,6±1,1 <sup>b</sup>
Verduras crudas	1,4±0,5	1,4±1,1	1,7±1,1	1,4±1,2
Verduras cocinadas	0,6±0,9	1,8±1,3	1,7±0,9	1,9±1,3
Champiñones	0,4±0,5	0,5±0,9	1,1±1,1	1,1±1,0
<b>Evaluación global</b>	4,4±0,5 <sup>a</sup>	3,0±1,0 <sup>b</sup>	3,3±0,8 <sup>a,b</sup>	3,3±0,9 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup> Letras diferentes para la misma fila indican diferencias significativas según el Test de Tukey ( $p < 0,05$ ).

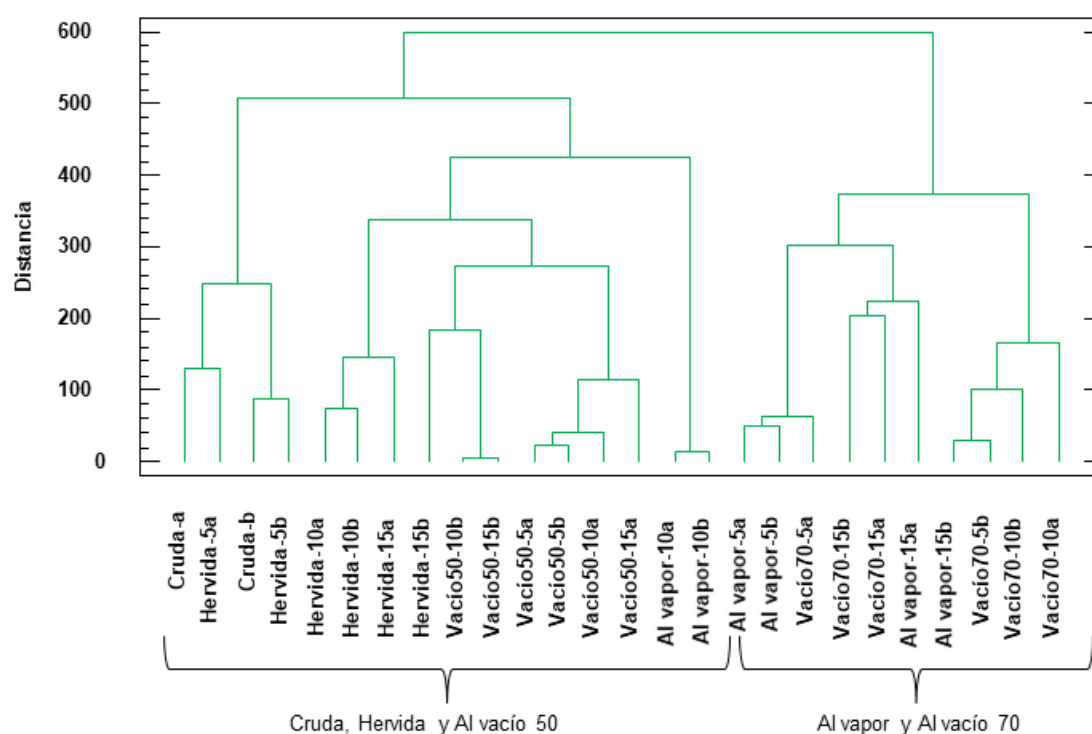
Como se puede observar, los descriptores principales obtenidos del ACP son principalmente descriptores de aroma y sabor, como se señala en el estudio ANOVA. El diagrama de dispersión de las muestras en el plano definido por las dos primeras CP se muestra en la Figura 4.2.3. A partir de esta figura, se puede observar que las muestras al vapor durante 15 minutos y todas las cocidas al vacío a 70 °C se sitúan en la zona negativa para CP1 mientras que la muestra cruda, las muestras hervidas y las cocidas al vacío a 50 °C se sitúan en la zona positiva de esta CP. De modo que parece que CP1 y CP2 están relacionadas con el proceso de cocción, con valores positivos para la muestra cruda.



**Figura 4.2.3.** Análisis de componentes principales de los descriptores sensoriales de las muestras de *Ulva* sp.

Teniendo en cuenta tanto los resultados de ACP sobre los constituyentes volátiles como sobre los descriptores sensoriales, parece que durante los procesos de cocción de *Ulva* sp., los principales cambios se relacionan con disminuciones significativas en varios aldehídos que provocan valores más bajos para algunos descriptores relacionados con notas herbáceas y de pescado (pescado fresco, algas, intensidad vegetal, etc.). Esto está en concordancia con un estudio previo realizado por Giri *et al.* (2010) que muestra que los aldehídos, dependiendo de su estructura química específica, están relacionados con notas herbáceas, vegetales y de pescado.

Con respecto a los resultados obtenidos del análisis de cluster de datos sensoriales, el dendrograma se muestra en la Figura 4.2.4. En dicho dendrograma se pueden observar dos grupos claros: uno con muestras crudas, hervidas y al vacío a 50 °C; y otro con muestras cocinadas al vapor y cocción al vacío a 70 °C. Los resultados del análisis de cluster están en concordancia con los del ACP.



**Figura 4.2.4.** Dendrograma de las muestras sometidas a distintos tiempos y tratamientos de cocción sobre los parámetros sensoriales.



### 4.2.5. Conclusiones

En conclusión, los diferentes métodos de cocción empleados en este estudio modifican significativamente tanto el contenido en compuestos volátiles como las propiedades sensoriales de *Ulva* sp. (lechuga de mar). En relación a los compuestos volátiles, en general, se observan concentraciones más bajas para las muestras cocidas, sin diferencias significativas entre las condiciones específicas de cocción (temperatura, tiempo y tipo). El análisis de componentes principales de los compuestos volátiles muestra que varios compuestos aldehídicos son los que se ven más afectados por los procesos de cocción.

En relación al análisis sensorial, las muestras cocinadas presentan valores significativamente diferentes para algunos descriptores de aroma y sabor con respecto a la muestra cruda. Para las muestras cocidas se obtienen valores más bajos en varios descriptores del aroma, como el aroma a "costa/rocas" y a "algas marinas", mientras que aumentan los valores para los descriptores de "pescado cocido", "pescado seco o salado" y "crustáceos". En este caso, tampoco se encuentran diferencias estadísticas claras entre los diferentes tiempos y temperaturas de cocción estudiados.

Por tanto, según estos resultados parece que, para la cocción de la lechuga de mar, los principales cambios sensoriales y modificaciones en su contenido volátil tienen lugar durante los primeros minutos y a temperaturas medias.

#### 4.2.6. Bibliografía

- Amorim-Carrilho, K., Lage-Yusty, M. A., López-Hernández, J., 2014. Variation of bioactive compounds in dried seaweed *Himanthalia elongata* subjected to different culinary processes. *CYTA - J. Food* 12, 336–339. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.877082>
- Amorim, K., Lage-Yusty, M. A., & López-Hernández, J., 2012. Short communication: Changes in bioactive compounds content and antioxidant activity of seaweed after cooking processing. *CYTA - J. Food* 10, 321–324. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.658871>
- Boulom, S., Robertson, J., Hamid, N., Ma, Q., Lu, J., 2014. Seasonal changes in lipid, fatty acid,  $\alpha$ -tocopherol and phytosterol contents of seaweed, *Undaria pinnatifida*, in the Marlborough Sounds, New Zealand. *Food Chem.* 161, 261–269. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.007>
- Buschmann, A. H., Camus, C., Infante, J., Neori, A., Israel, Á., Hernández-González, M. C., Pereda, S. V., Gomez-Pinchetti, J. L., Golberg A., Tadmor-Shalev N., Critchley, A. T., 2017. Seaweed production: overview of the global state of exploitation, farming and emerging research activity. *Eur. J. of Phycol.* 52, 391–406. <https://doi.org/10.1080/09670262.2017.1365175>
- Chan, J. C.-C., Cheung, P. C.-K., Ang, P. O., 1997. Comparative studies on the effect of three drying methods on the nutritional composition of seaweed *Sargassum hemiphyllum* (Turn.). *J. Agr. Food Chem.* 45, 3056–3059. <https://doi.org/10.1021/jf9701749>
- Chan, P. T., Matanjun, P., 2017. Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Food Chem.* 221, 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.066>
- Chen, K., Roca, M., 2018. Cooking effects on chlorophyll profile of the main edible seaweeds. *Food Chem.* 266, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.040>
- Cox, S., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S., 2011. Effect of processing conditions on phytochemical constituents of edible Irish seaweed *Himanthalia elongata*. *J. Food Process. Pres.* 36, 348–363. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00563.x>
- Evrendilek, G. A., Avsar, Y. K., Evrendilek, F., 2016. Modelling stochastic variability and uncertainty in aroma active compounds of PEF-treated peach nectar as a function of physical and sensory properties, and treatment time. *Food Chem.* 190, 634–642. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.010>
- FAO, 2016. Contributing to food security and nutrition for all. *The state of world fisheries and aquaculture*, Rome. <https://doi.org/92-5-105177-1>
- Ferraces-Casais, P., Lage-Yusty, M. A., Rodríguez-Bernaldo De Quirós, A., López-Hernández, J., 2013. Rapid identification of volatile compounds in fresh seaweed. *Talanta*, 115, 798–800. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.049>
- García Sartal, C., Barciela Alonso, M. del C., Moreda Piñeiro, A., Bermejo Barrera, P., 2013. Study of cooking on the bioavailability of As, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Se and Zn from edible seaweed. *Microchem. J.* 108, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.003>
- Giri, A., Osako, K., Ohshima, T., 2010. Identification and characterisation of headspace volatiles of fish miso, a Japanese fish meat based fermented paste, with special emphasis on effect of fish species and meat washing. *Food Chem.* 120, 621–631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.036>
- Gupta, S., Cox, S., Abu-Ghannam, N., 2011. Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *LWT - Food Sci. Technol* 44, 1266–1272. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.022>

- Hwang, E. S., 2013. Composition of amino acids, minerals, and heavy metals in differently cooked laver (*Porphyra tenera*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42, 1270–1276. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.8.1270>
- Kamenarska, Z., Dimitrova-Konaklieva, S., Stefanov, K., Najdenski, H., Tzvetkova, I., Popov, S., 2002. Comparative study of the volatile compounds from some Black Sea brown algae. *Bot. Mar.* 45, 502–509. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.053>
- López-Pérez, O., Picon, A., Nuñez, M., 2017. Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehydrated edible seaweeds. *Food Res. Int.* 99, 1002–1010. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.013>
- Maruti, A., Durán-Guerrero, E., Barroso, C. G., Castro, R., 2018. Optimization of a multiple headspace sorptive extraction method coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile compounds in macroalgae. *J. Chromatogr. A*, 1551, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.011>
- McHugh, D. J., 2003. *A Guide to the Seaweed Industry*. FAO Fisheries Technical Paper. <https://doi.org/ISBN 92-5-104958-0>
- Mouritsen, O., 2013. *Seaweeds: edible, available, and sustainable*. The University of Chicago Press (Vol. 1). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Mouritsen, O. G., Duelund, L., Petersen, M. A., Hartmann, A. L., Frøst, M. B., Hartmann, A. L., 2018. Umami taste, free amino acid composition, and volatile compounds of brown seaweeds. *J. Appl. Phycol.* <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1632-x>
- Mouritsen, O. G., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J. L., 2018. The rise of seaweed gastronomy: phycogastronomy. *Bot. Mar. in press*.
- Mouritsen, O. G., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J. L., 2018. World cuisine of seaweeds: Science meets gastronomy. *Int. J. of Gastron. Food Sci.* 14, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.09.002>
- Peinado, I., Girón, J., Koutsidis, G., Ames, J. M., 2014. Chemical composition, antioxidant activity y sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds. *Food Res. Int.* 66, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.035>
- Pérez-Lloréns, J. L., Hernández, I., Vergara, J. J., Brun, F. G., León, Á., 2018. *Those curious and delicious seaweeds: A fascinating voyage from biology to gastronomy*. UCA Press.
- Pina, A. L., Costa, A. R., Lage-Yusty, M. A., López-Hernández, J., 2014. An evaluation of edible red seaweed (*Chondrus crispus*) components and their modification during the cooking process. *LWT - Food Sci. Technol.* 56, 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.006>
- Rioux, L. E., Beaulieu, L., Turgeon, S. L., 2017. Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. *Food Hydrocoll.* 68, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.005>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Song, Y., Zhao, J., Chen, J., Luo, Q., Yang, R., Xu, J., Chen, H., Yan, X., 2018. Heat shock-induced metabolic conversion of membrane lipids, fatty acids and volatile organic compounds of *Pyropia haitanensis* under different heat shock time. *Phycol. Res.* 66, 89–99. <https://doi.org/10.1111/pre.12206>

- Sugisawa, H., Nakamura, K., Tamura, H., 1990. The aroma profile of the volatiles in marine green algae (*Ulva pertusa*). *Food Rev. Int.* 6, 573–589. <https://doi.org/10.1080/87559129009540893>
- Tylewicz, U., Inchingolo, R., Rodriguez-Estrada, M. T., 2017. Food aroma compounds. In *Nutraceutical and Functional Food Components*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00009-0>
- Yamamoto, M., Baldermann, S., Yoshikawa, K., Fujita, A., Mase, N., Watanabe, N., 2014. Determination of volatile compounds in four commercial samples of japanese green algae using solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry. *Sci. World J.* <https://doi.org/10.1155/2014/289780>

## Índice de figuras

<b>Figura 4.2.1.</b> Análisis de componentes principales para compuestos volátiles .....	213
<b>Figura 4.2.2.</b> Dendograma obtenido de las muestras sometidas a distintos tiempos y tratamientos de cocción en función de compuestos aromáticos .....	215
<b>Figura 4.2.3.</b> Análisis de componentes principales de los descriptores sensoriales de las muestras de <i>Ulva</i> sp. ....	220
<b>Figura 4.2.4.</b> Dendograma de las muestras sometidas a distintos tiempos y tratamientos de cocción sobre los parámetros sensoriales.....	221

## Índice de tablas

<b>Tabla 4.2.1.</b> Valores medios y desviaciones estándar encontradas en las muestras cocinadas a diferentes temperaturas .....	209
<b>Tabla 4.2.2.</b> Valores medios y desviaciones estándar encontradas en las muestras a diferentes tiempos de cocción .....	210
<b>Tabla 4.2.3.</b> Valores medios y desviaciones estándar encontradas en las muestras cocinadas en diferentes condiciones .....	212
<b>Tabla 4.2.4.</b> Valores medios y desviaciones estándar para los descriptores sensoriales según la temperatura .....	216
<b>Tabla 4.2.5.</b> Valores medios y desviaciones estándar para los descriptores sensoriales según el tiempo .....	218
<b>Tabla 4.2.6.</b> Valores medios y desviaciones estándar para los descriptores sensoriales según el tratamiento de cocción .....	219





# Capítulo 5

## Desarrollo de nuevos productos a base de *Ulva* spp. de estero



Anatomical heart ocean, [www.pinterest.es](http://www.pinterest.es)

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 5





# INDICE

## 5. Desarrollo de nuevos productos a base de *Ulva* spp. de estero;Error! Marcador no definido.

<b>5.1. Resumen</b>	233
<b>5.2. Introducción</b>	234
<b>5.3. Objetivos</b>	236
<b>5.4. Nombre y descripción de los productos</b>	236
5.4.1. <i>Mousse de algas frescas</i>	236
5.4.2. <i>Aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas</i>	238
5.4.3. <i>Snack de algas</i>	239
5.4.4. <i>Galletas saladas de algas</i>	239
5.4.5. <i>Pesto marino</i>	240
5.4.6. <i>Hamburguesa vegana de algas</i>	240
<b>5.5. Características del proceso productivo</b>	242
5.5.1. <i>Descripción del proceso productivo y técnicas utilizadas</i>	242
5.5.2. <i>Características de las materias primas empleadas en el proceso productivo de todos los productos</i>	245
<b>5.6. Características específicas y composición del producto</b>	246
5.6.1. <i>Composición y formulación</i>	246
5.6.2. <i>Características organolépticas</i>	248
<b>5.7. Aceptabilidad de los productos</b>	251
5.7.1. <i>Análisis sensorial</i>	251
5.7.2. <i>Evaluación de los resultados</i>	253
<b>5.8. Conclusiones</b>	261
<b>5.9. Bibliografía</b>	262
<b>Índice de figuras</b>	264
<b>Índice de tablas</b>	264
<b>Anexos</b>	265



## 5. Desarrollo de nuevos productos a base de *Ulva* spp. de estero

### 5.1. Resumen

En el campo de la alimentación, el empleo de algas o de extractos algales en gran diversidad de productos (cárnicos, productos del mar, lácteos y pasta) ha demostrado mejorar las propiedades nutricionales, funcionales y sensoriales de estos alimentos. Sin embargo, el consumo de algas tanto en fresco como procesadas (desechadas, en salazón y en conserva) sigue estando muy limitado por el desconocimiento y sus posibles usos en la cocina. En este sentido, la *haute cuisine*, los medios de comunicación, internet, etc. están convirtiendo las algas en un alimento estrella debido a la gran versatilidad de sabores, texturas y contrastes cromáticos produce en la cocina, lo que ha generado nueva tendencia gastronómica conocida como ficogastronomía. Las costas y los esteros de la Bahía de Cádiz son una fuente importante de recursos marinos infrautilizados, incluyendo un gran número de especies de algas marinas entre las que se incluye la lechuga de mar (*Ulva* spp.). En capítulos anteriores se ha mostrado la riqueza nutricional, funcional y tecnológica de la lechuga de mar de nuestros esteros, lo que le confiere una posible aplicación en la industria alimentaria ya sea como producto fresco, procesado o ingrediente. El objetivo principal del presente trabajo fue el empleo de *Ulva* spp. recolectada en esta zona como ingrediente alimentario en el desarrollo de nuevos productos a base de algas.

Como resultado se han desarrollado un total de 6 productos: mousse de algas frescas, aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas, snacks de algas, pesto de algas, galletitas saladas de algas y hamburguesa vegana de algas. Los distintos productos fueron sometidos una prueba de aceptabilidad por dos paneles de cata diferenciados siguiendo la Normativa UNE-ISO 11136. Los resultados fueron evaluados para determinar, en primer lugar, la distribución de la población respecto a la aceptabilidad de los productos de algas de forma cuantitativa y continua y, posteriormente, se realizó un análisis de varianza para ordenaciones (ISO 8587:2006 AENOR, 2010) a través del test de Friedman para determinar la preferencia entre los distintos productos. Varios de los productos desarrollados resultaron claramente diferenciados, aunque las valoraciones dependieron del grupo de consumidores al que estuvieron dirigidas las catas.

El desarrollo de estos productos podría abrir un nuevo mercado favoreciendo el consumo de algas no sólo a nivel local sino también a nivel nacional.

## 5.2. Introducción

Las macroalgas marinas se consideran actualmente como los alimentos de origen vegetal del futuro, ya que se encuentran en el estatus de “superalimentos”, término utilizado en el mercado para el reconocimiento de sus beneficios para la salud como consecuencia de su perfil nutricional y su riqueza en fitoquímicos bioactivos (Circuncisão *et al.*, 2018; Pereira *et al.*, 2012). El interés creciente en las algas como fuente de macronutrientes, micronutrientes y componentes bioactivos ha impulsado su consumo y posible aplicación en las industrias de alimentos funcionales y nutraceuticos (Gallego *et al.*, 2019; Wells *et al.*, 2017). La mayoría de las algas producen metabolitos altamente valiosos, como ácidos grasos, proteínas, pigmentos o polisacáridos con actividades biológicas (antioxidantes, antiinflamatorias, neuroprotectoras o antimicrobianas) debido a su capacidad de adaptación a los ambientes extremos de luz, salinidad y temperatura (Ibañez *et al.*, 2012; Norambuena *et al.*, 2019). Esto hace que su introducción en la dieta, ya sea por consumo directo o después de un mínimo procesado, suponga beneficios saludables para el consumidor (Mikami *et al.*, 2014), al tratarse de una fuente natural de ingredientes funcionales y con un gran potencial para conseguir alimentos que mejoren la salud y el bienestar de los consumidores (Caleja *et al.*, 2017; Gallego *et al.*, 2019).

El potencial económico en la industria de las algas está fundamentalmente vinculado a la gran diversidad de productos con valor añadido que pueden obtenerse de estos vegetales marinos. Si bien la mayor parte de las algas se destina actualmente a alimentos (85%) y extracción de hidrocoloides (10%) para su uso como aditivo alimentario (gelificantes o estabilizantes), en productos farmacéuticos (generalmente como estabilizadores), cosméticos (exfoliantes faciales y jabones), etc. (Cheshire *et al.*, 2019; FAO, 2014), cabe destacar que el resto se usa cada vez más para la extracción de otros compuestos de alto valor añadido cuyo uso ofrece numerosas oportunidades para la creación de productos especializados con un alto valor comercial y/o nutricional (Cheshire *et al.*, 2019). Esta gama de productos, que se obtienen a partir de las

macroalgas y se utilizan en nuestra vida cotidiana, sugiere que, al menos en el mundo desarrollado, la población a diario consume o utiliza productos derivados de las macroalgas.

En el campo de la alimentación, el empleo de algas o de extractos algales en productos cárnicos de cerdo, vacuno y pollo, así como en productos del mar, lácteos y pasta ha demostrado mejorar las propiedades nutricionales, funcionales y sensoriales de estos alimentos contribuyendo así al desarrollo de alimentos funcionales (Chang *et al.*, 2011; Chang y Wu, 2008; Mamat *et al.*, 2014; Mamatha *et al.*, 2007; Roohinejad *et al.*, 2017). Sin embargo, su consumo tanto en fresco como procesadas (deshidratadas, en salazón y en conserva) sigue estando muy limitado por el desconocimiento y sus posibles usos en la cocina. En este sentido, la *haute cuisine*, en la que las algas se están convirtiendo en un elemento estrella por su gran versatilidad (contrastes cromáticos, texturas y sabores), así como los medios de comunicación, internet, los nuevos hábitos de consumo y la apuesta por experimentar con alimentos con sabores, aromas y texturas diferentes, están contribuyendo a aumentar el interés por las algas y su aplicación en la cocina bajo una nueva tendencia gastronómica conocida como ficogastronomía. Sin embargo, todavía suelen ser desconocidas y/o consideradas como un producto gourmet para la mayoría de la población. Teniendo en cuenta sus propiedades como ingredientes funcionales, las aplicaciones potenciales de extractos de algas marinas o enteras en la industria alimentaria para mejorar las propiedades nutricionales, texturales y sensoriales de los productos alimentarios son muy diversas.

En este sentido, entre las distintas especies, las algas verdes del género *Ulva* podrían ser una vía prometedora de componentes bioactivos adecuados para diseñar alimentos funcionales (Jannat-Alipour *et al.*, 2019), además de aportar características sensoriales particulares. Aunque en la actualidad se ha centrado la atención en sus aplicaciones médicas debido a componentes bioactivos como los polisacáridos sulfatados (Li *et al.*, 2018; Rahimi *et al.*, 2016), *Ulva* se ha consumido desde la antigüedad por su alto valor nutricional tanto fresca como deshidratada (Cofrades *et al.*, 2017; Yaich *et al.*, 2011) y su empleo, tanto frescas como en polvo, en el desarrollo de nuevos productos supondrá un aporte de proteínas de alta calidad, minerales, fibra, ácidos grasos esenciales, carotenoides, etc. (Jannat-Alipour *et al.*, 2019; Roohinejad *et al.*, 2017).

En este capítulo se tratará de poner en valor todas las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas de determinadas en los capítulos anteriores, *Ulva* sp. o lechuga de mar, a través del diseño y elaboración de nuevos productos que promuevan el consumo de algas en un país como España, cuya población no está familiarizada con las características organolépticas particulares de las algas marinas. Teniendo en cuenta que no existen muchos estudios en los cuales se hayan utilizado las algas frescas o en polvo para el desarrollo de productos (Jannat-Alipour *et al.*, 2019), los productos a desarrollar tendrán dicha singularidad. Con el desarrollo de estos productos, no solo se potenciaría el empleo de las algas de estero y su consumo, sino que además conllevaría a un impulso socioeconómico en la zona.

### 5.3. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es la elaboración de productos a base de algas de estero de la Bahía de Cádiz para favorecer el consumo de estas algas a través de diseños más cercanos al consumidor impulsando a la vez el desarrollo socioeconómico de la zona. A continuación, se detallan los productos finales una vez seleccionadas las formulaciones óptimas de todos ellos.

### 5.4. Nombre y descripción de los productos

#### 5.4.1. *Mousse de algas frescas*

Mousse de alga verde (*Ulva* sp.) (Figura 5.1.), elaborada a base de algas frescas de estero recolectadas en el Parque Natural de la Bahía de Cádiz. Este producto es el primero que se desarrolla y nace de la idea de fomentar los recursos propios de la zona y principalmente de los esteros vs, que actualmente se encuentran en un estado importante de abandono.

El objetivo principal es elaborar un producto que recoja la esencia de este recurso marino, recolectado en un entorno único, en un solo bocado. Se propone como un producto que recordara al mar, la brisa marina, la espuma de mar, la marisma y la naturaleza del Parque Natural de la Bahía.

El resultado es una espuma alimentaria, tipo mousse, a base de algas frescas al que se le denomina Algaro (acrónimo de alga y estero).



**Figura 5.1.** Mousse de algas frescas ALGARO.

Este producto es presentado, bajo el Proyecto Algaro, en Ecotrophelia España en 2012, una competición de estudiantes, organizada por la Federación Española de Industrias de Alimentación y Bebidas (FIAB), que tiene como objetivo la creación de nuevos productos alimenticios eco-innovadores consiguiendo un 3º premio (<http://chil.me/post/entrega-de-premios-ecotrophelia-espana-2012-68862>). También se obtiene un accésit en el concurso AtrÉBT, en la modalidad de Ideas de empresa de base tecnológica, organizado en la universidad de Cádiz el mismo año. Previamente a la presentación en ambos concursos se solicita su patente con examen previo, número de solicitud P201200405, la cual es publicada en 2014, con el número ES2425606 y título "MOUSSE DE ALGAS FRESCAS" (Anexo I). Se trata de un producto novedoso e innovador, de cuidada elaboración y características sensoriales particulares. Dicho producto no es sólo innovador por la materia prima empleada (algas de estero) sino también por el tipo de elaboración llevada a cabo para obtener la textura de espuma alimentaria.

Esto hace que dicho producto presente unas características sensoriales muy particulares, con un intenso sabor marino aportado por *Ulva* sp., y textura suave, delicada, fundente y esponjosa, tipo mousse, resultando un producto de fácil consumo tanto por sí solo como acompañado por picos, snacks, etc. o incluso como acompañamiento gastronómico en forma de salsas, etc.



#### 5.4.2. *Aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas*

El vinagre de Jerez aromatizado con algas de estero (Figura 5.2.) es un producto innovador resultante de la idea de unir un producto tradicional de la provincia como es el vinagre de Jerez, considerado una de las joyas de la gastronomía universal (Solieri y Giudic, 2009) con un producto novedoso en la provincia como son las algas de estero.



**Figura 5.2.** Aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas.

Se obtiene a partir de un proceso de maceración, controlada y asistida mediante agitación y ultrasonidos, de algas de estero del género *Ulva* en vinagre de jerez durante 24 – 48 horas, a una temperatura de 20-25 °C. Para la elaboración de este producto se emplean como materias primas básicas: vinagre de jerez “reserva” con al menos 2 años de crianza en barrica de roble y algas de estero liofilizadas.

Se trata de un producto que presenta unas cualidades sensoriales muy novedosas, en donde se unen la acidez, la frescura y la potencia aromática y gustativa del vinagre de Jerez con las notas marinas, yodadas y minerales de las algas. Sus cualidades sensoriales la hacen ideal como aderezo para potenciar el carácter marino de vinagretas, mahonesas y también para su aplicación directa en ensaladas, verduras y pastas. El uso de las algas como aditivo no sólo mejora las características sensoriales de la elaboración culinaria, sino que también proporciona una mejora en las cualidades nutricionales y saludables del aderezo, integrándose como producto dentro de los patrones característicos de la dieta mediterránea. Se solicita su patente en 2017 con examen previo, número de solicitud P201700193, cuya publicación ha tenido lugar en 2019, con el número ES2681068 y título “ADEREZO DE VINAGRE DE JEREZ AROMATIZADO CON ALGAS DE ESTERO” (Anexo II).

#### 5.4.3. *Snack de algas*

El snack de algas (Figura 5.3.) se diseña para conseguir un producto común y de fácil consumo, aportando la novedad de contener algas en su formulación. Este producto se obtiene del resultado de la fusión de productos de calidad y elaboración artesanal, similar a regañas y picos de algas existentes ya en el mercado

(<https://www.atuneate.com/reganas-y-picos-con-algas-el-crujiente-del-mar/>).



**Figura 5.3.** Snack de algas.

Sin embargo, presenta la particularidad del empleo sólo de *Ulva* sp. desecada en una proporción más elevada que en los productos ya existentes. A este producto se le da forma circular, similar a otras galletitas saladas, pero con un ingrediente nuevo que le aporta la novedad al producto. Dicho producto se obtiene mezclando harina, agua, aceite, algas y una pizca de sal. La obtención del snack de algas persigue el propósito de evitar los snacks con alto contenido graso presentes en el mercado, como por ejemplo las patatas fritas “chips”, ya que se elabora al horno. Este producto permite tener la opción de consumir un aperitivo saludable, donde las algas, además de actuar como un potenciador de sabor, aportan salinidad al producto, obteniendo un producto bajo en sal (0,5% sal). Todas estas características permiten considerar a este producto como una buena opción de snack saludable para picar entre horas.

#### 5.4.4. *Galletas saladas de algas*

Las galletas saladas de algas de estero (Figura 5.4.) se obtienen a partir de una tradicional receta de galletas de mantequilla caseras. Con este producto se busca dejar latente que las algas no solo son un ingrediente para la cocina innovadora, sino que también se pueden utilizar como ingrediente en recetas tradicionales, obteniendo además un producto con unas propiedades nutricionales y sensoriales únicas.



**Figura 5.4.** Galleta salada de algas.

Para darle un toque personal e innovador a las clásicas recetas de este tipo de galletas, se añadieron algas como ingrediente principal para darle un toque personal e innovador a un producto tradicional. Así, el producto se elaboró con *Ulva* sp. y con los ingredientes comunes de este tipo de elaboraciones como harina de trigo, mantequilla, huevos, azúcar, levadura y una pizca de sal. Se obtiene un producto final donde las características marinas que aportan las algas no se reflejan de una forma muy notable, lo cual podría ser una buena opción para los consumidores que busquen productos saludables, con el aporte de las algas, pero que no terminan de familiarizarse con sus características organolépticas.

#### 5.4.5. *Pesto marino*

El pesto marino (Figura 5.5.) es un producto elaborado con *Ulva* sp. recolectada en la bahía de Cádiz. En este caso se busca un producto para aderezar pastas y se pensó en un pesto de receta italiana en el que se sustituye la albahaca por la lechuga de mar. El pesto marino se elabora con el alga fresca y en especias para darle un color más intenso, además se utilizan otros ingredientes como aceite de oliva, aceite de girasol, piñones, queso parmesano, ajo y una pizca de sal.



**Figura 5.5.** Pesto marino.

Se obtiene un producto que a simple vista parece un pesto tradicional pero que aporta un sabor intenso a mar, ideal para combinar con pasta, marisco o incluso para consumir en frío como una salsa tipo "dippas".

#### 5.4.6. *Hamburguesa vegana de algas*

Producto elaborado con *Ulva* sp. recolectada en la bahía de Cádiz. Se trata de una hamburguesa elaborada a base de soja texturizada y dos especies de algas que se desarrollan de forma natural en la bahía de Cádiz (*Ulva laminar* sp. y *Chondracanthus teedei*; Figura 5.6.) El ingrediente principal fue *Ulva* sp., en mayor proporción, seguida de un porcentaje mucho menor de *C. teedei*. Además, se utilizó soja texturizada para conseguir la textura cárnica, la cual

se rehidrató previamente con un fumé de algas que potenció el sabor y aroma del producto final. Finalmente se utiliza un gelificante vegetal comercial con efecto aglutinador, que permite obtener un producto vegano, sin necesidad de utilizar otros ingredientes de origen animal. En el emplatado se puede añadir *Ulva* sp. o lechuga de mar a la plancha “vuelta y vuelta” sustituyendo la tradicional hoja de lechuga. La hamburguesa vegana de algas es un producto novedoso que además de su aporte proteínico, presenta el aspecto y la textura de una hamburguesa de origen animal, pero con características sensoriales de un producto gourmet.



**Figura 5.6.** Hamburguesa vegana de algas.

Cabe destacar que tanto el pesto marino como la hamburguesa vegana se desarrollan especialmente para el proyecto Ealga (RNM-1235, “Optimización de la recolección y el cultivo al aire libre de macroalgas destinadas a la industria alimentaria en esteros de la bahía de Cádiz: potencial nutricional/gastronómico e implicaciones ambientales”).

El taller gastronómico denominado “¿las algas se comen?”, que se lleva a cabo durante la jornada “Las macroalgas: ¿una opción de futuro en el entorno de la bahía de Cádiz?” en 2017 (Figura 5.7.) como una de las actividades contempladas en dicho proyecto (Programa del evento, Anexo III) y en el que también se degustan el mousse de algas y el vinagre de Jerez aromatizado con algas.



**Figura 5.7.** Degustación de productos con algas durante en la jornada celebrada en Ctaqua el 15 de febrero de 2017 a través del Proyecto Ealga.

## 5.5. Características del proceso productivo

### 5.5.1. Descripción del proceso productivo y técnicas utilizadas

- **Mousse de algas frescas:** las algas son previamente recolectadas en los esteros de la Bahía de Cádiz y en estado fresco se transportan al lugar de elaboración donde son lavadas con agua clorada y finamente cortadas. Para llevar a cabo la elaboración, en primer lugar, se prepara una emulsión con la nata y el aceite, batiendo la mezcla el tiempo necesario hasta conseguir la textura deseada tipo espuma. Conseguida la emulsión, se adiciona la lecitina de soja para aportar estabilidad a la espuma y se vuelve a agitar hasta homogeneizar completamente. Seguidamente se añade la flor de sal y las algas frescas previamente cortadas y se mezcla todo hasta alcanzar la homogeneización. En último lugar se incorpora la harina de trigo como espesante mezclando nuevamente hasta conseguir la textura tipo mousse. Una vez obtenida la mousse, se realiza el envasado en botes de vidrio alimentario previamente esterilizados, se cierran herméticamente y se pasteurizan. Transcurrido el tratamiento térmico necesario, el producto se enfría rápidamente mediante abatimiento, consiguiendo así tanto la estabilidad del producto como el mantenimiento de sus características organolépticas. Dado que se trata de un producto pasteurizado es necesaria su conservación en condiciones de refrigeración (2 a 8 °C) hasta su consumo.
- **Aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas:** para la elaboración de la formulación de aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas de estero, se emplean como materias primas básicas: vinagre de jerez reserva con una vejez entre 2 y 10 años y una acidez media de 8,5-9% procedente de una solera, y algas del género *Ulva* (alga verde) recolectadas en los esteros de la Bahía de Cádiz. El alga es previamente liofilizada y molida y añadida al vinagre de Jerez en una proporción de 2-3 % (p/v) para su maceración durante 24-48 horas a una temperatura entre 20-25 °C empleando agitación y pulsos de ultrasonidos de 5 min/h a una frecuencia de 20 kHz. Posteriormente se deja sedimentar por decantación en un tiempo comprendido entre 1 a 3 horas. Transcurrido ese tiempo se procede a separar la fracción líquida, la cual se filtra por placas filtrantes en profundidad de celulosa y diatomeas de 15 µm de tamaño

de poro nominal para la clarificación y abrillantado del producto antes de proceder a su envasado. Dadas sus características se trata además de un producto que no presenta fecha de caducidad debido a su estabilidad microbiológica, siempre que se mantenga bien cerrado y a una temperatura ambiente adecuada.

- ***Snack de algas:*** para la elaboración del snack de algas se emplean algas deshidratadas, harina, aceite y una pizca de sal. En el primer paso se añade agua, aceite y sal en la thermomix y se mezclan durante 15 segundos. Seguidamente se añade la harina y se vuelve a mezclar durante el mismo tiempo. Después se añade la *Ulva* sp. triturada y se amasa durante 1 minuto. Finalmente, se extiende la masa con ayuda de un rodillo, se realiza el corte con un molde circular de tamaño pequeño y se colocan los snacks en una bandeja para su horneado durante 20 minutos a 180 °C. Para la conservación de este producto, es muy importante mantenerlo libre de humedad, ya que perdería su textura crujiente, una de las características más importantes de este producto. En un lugar hermético, seco y fresco pueden tener una vida útil de más de seis meses como cualquier galleta de las mismas características.
- ***Galletas saladas de algas:*** su elaboración se realiza del mismo modo que las recetas tradicionales de este producto. Primero se mezcla el azúcar, la mantequilla, los huevos y una pizca de sal. Seguidamente se añade la harina y un sobre de levadura comercial. Por último, se añade la *Ulva* sp. triturada y se amasa hasta conseguir una masa uniforme. Una vez obtenida la masa con todos los ingredientes integrados se cubre con un film transparente y se mantiene en el frigorífico durante 30 minutos. Este proceso ayuda a endurecer la mantequilla, lo que permite trabajar mejor la masa, la cual se extiende con un rodillo y se corta con ayuda de un molde para darle forma a las galletas. Finalmente, las galletas se hornean durante 10 minutos a 180 °C, evitando que se doren demasiado para que no tomen un sabor amargo. La conservación de este producto es difícil, al igual que las galletas de mantequilla tradicionales, ya que, aunque se puedan conservar durante un par de meses en un envase hermético o caja de galletas, su sabor y textura cambia a partir de la segunda semana. Por esta razón se recomienda consumir en las dos primeras semanas de su elaboración, evitando así perder las características originales de este producto.

- **Pesto marino:** para la elaboración tradicional del pesto se suele emplear un mortero de mármol, pero en este caso se utiliza una batidora con el vaso de picado. Se mezclan en el vaso las algas frescas, los piñones, el queso parmesano, el ajo y una pizca de sal. Sin dejar de mezclar se añade el aceite empleando un aceite de girasol, cuyas características son más suaves que las del aceite de oliva virgen extra, para evitar enmascarar el sabor de las algas. Para evitar dañar mucho el alga se tritura con pequeños golpes de 10 segundos a la velocidad más baja permitida por el equipo utilizado, hasta conseguir una mezcla homogénea de los ingredientes y la consistencia deseada.

Para su conservación se debe guardar en un recipiente hermético y el aceite actúa como conservante del producto, ya que se genera una capa superficial que permite prolongar su vida útil a dos semanas siempre que se mantenga en condiciones de refrigeración.

- **Hamburguesa vegana de algas:** Para la elaboración de la hamburguesa de algas, primero se elabora un fumé de algas con el que rehidratar la soja texturizada con el fin de aportarle más sabor. El fumé se elabora con *Ulva* sp. fresca y una proporción menor de *Ulva* sp. y *C. teedei* deshidratadas, las cuales se mantienen durante 25 minutos a 85 °C. Para la elaboración de la hamburguesa se utiliza parte de las algas del fumé, *Ulva* sp. fresca, *Ulva* sp. y *C. teedei* deshidratadas, soja texturizada rehidratada previamente con el fumé y una pizca de sal. Finalmente, se añade un gelificante de origen vegetal compuesto por alginato de sodio y sulfato de calcio que actúa como aglutinante, permitiendo la unión de la masa y, por tanto, el moldeado del producto en formato de hamburguesa. Para el moldeado se utilizan moldes de silicona con forma redondeada y en formato de 8 unidades individuales por molde.

Para su conservación se recomienda su congelación hasta su consumo, permitiendo mantener sus características durante un periodo de tiempo prolongado.

### 5.5.2. Características de las materias primas empleadas en el proceso productivo de todos los productos

A continuación, se describe la composición nutricional del resto de ingredientes utilizado en las distintas elaboraciones:

- **Harina de trigo**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	10,3
Carbohidratos	77,1
Grasas	1,3
Fibra	--
Valor energético (Kcal)	346,2
Sal	0,017

- **Nata líquida**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	2,0
Carbohidratos	5,0
Grasas	15,0
Fibra	--
Valor energético (Kcal)	163,1
Sal	0,10

- **Lecitina de soja**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	6,7
Carbohidratos	21,0
Grasas	53,0
Fibra	<0,5
Valor energético (Kcal)	593,1
Sal	0,03

- **Piñones**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	13,7
Carbohidratos	13,1
Grasas	68,4
Fibra	3,7
Valor energético (Kcal)	673
Sal	0,002

- **Aceite de oliva**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	--
Carbohidratos	--
Grasas	91,0
Fibra	--
Valor energético (Kcal)	822,1
Sal	--

- **Aceite de girasol**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	--
Carbohidratos	--
Grasas	92,0
Fibra	--
Valor energético (Kcal)	826,1
Sal	--

- **Soja texturizada**

Información nutricional por 100g	
Proteínas	53,1
Carbohidratos	26,0
Grasas	0,5
Fibra	24,0
Valor energético (Kcal)	1541,1
Sal	0,03



- ***Gelburguer***

Gelificante de la marca Sosa compuesto de una mezcla de alginato de sodio (E-401) y sulfato de calcio (E-516) que permite elaborar geles totalmente irreversibles térmicamente ideal para estructurar o unir picados o trozos si contienen un poco de agua libre. Se utilizan de 10 a 15 g por Kg de producto a tratar, añadiendo 100 g de líquido. Pasados 60 minutos se habrá gelificado.

- ***Sal marina***

La sal que se usa para elaborar los diferentes productos se denomina sal de hiel o sal tipo "flor" de recogida ecológica. Es la sal de calidad más alta (97,6% de cloruro sódico) y se cosecha a mano durante el atardecer según los métodos tradicionales de la Bahía de Cádiz. Se disuelve en boca con facilidad, no cruje y es ideal para realzar los sabores de los alimentos de forma natural. Además, aporta gran variedad de elementos minerales como hierro, calcio, magnesio y yodo.

## 5.6. Características específicas y composición del producto

### 5.6.1. Composición y formulación

- ***Mousse de algas frescas:*** Las proporciones empleadas de los distintos ingredientes para 100 gramos de mousse son los siguientes:
  - Alga verde *Ulva* sp.: entre 10 y 30 gr, preferentemente 20 gr.
  - Harina de trigo: entre 3 y 7 gr, preferentemente 5 gr.
  - Lecitina de soja: entre 3 y 7 gr, preferentemente 5 gr.
  - Aceite de oliva virgen extra (0,4 °): entre 5 y 15 gr, preferentemente 9 gr.
  - Nata baja en grasa: entre 40 y 80 gr, preferentemente 60 gr.
  - Flor de sal, en cantidad reducida, preferentemente 1 gr.

- **Aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas:** Las proporciones empleadas de los distintos ingredientes para 100 mL de aderezo son los siguientes:
  - Vinagre de Jerez reserva con una vejez entre 2 y 10 años y una acidez media de 8,5-9% procedente de una solera: 100 ml de vinagre.
  - Alga verde *Ulva* sp. utilizada para la maceración: 2-3 gr de alga seca.
  
- **Snack de algas:** Las proporciones empleadas de los distintos ingredientes para 100 gr de snack son los siguientes:
  - Harina: 50-60 gr, preferentemente 55 gr.
  - Aceite de oliva: 15-20 gr, preferentemente 15 gr.
  - *Ulva* sp. deshidratada y triturada: 3-4 gr, preferentemente 4 gr.
  - Agua: 25-30 mL, preferentemente 25 mL.
  - Flor de sal: en cantidad reducida, preferentemente 1 gr.
  
- **Galletas saladas de algas:** Las proporciones empleadas de los distintos ingredientes para 100 gr de galletas saladas son los siguientes:
  - Harina: 40-50 gr, preferentemente 45 gr.
  - Huevo: una unidad.
  - Mantequilla: 20-25 gr, preferentemente 22 gr.
  - Azúcar: 11-13 gr, preferentemente 12 gr.
  - Levadura: medio sobre, 8 gr aproximadamente.
  - *Ulva* sp. deshidratada y triturada: 5 gr aproximadamente.
  
- **Pesto marino:** Las proporciones empleadas de los distintos ingredientes para 100 gr de pesto son los siguientes:
  - Aceite girasol: 30 gr, aproximadamente.
  - Aceite oliva: 20 gr, aproximadamente.
  - Piñones: 10 gr.

- Parmesano: 30 gr.
  - Ajo: media unidad
  - *Ulva* sp. deshidratada y triturada: 2-3 gramos, preferentemente 2gr.
  - *Ulva* sp. fresca: 8-10 gramos, preferentemente 8 gr.
- ***Hamburguesa vegana de algas:*** Para la elaboración de la hamburguesa fue necesario preparar un fumé de algas previamente, con 500 mL de agua, 20 gr de *Ulva* sp. fresca, 3 gr *Ulva* sp. seca y 6 gr de *C. teedei* seca manteniéndolo a 85 °C durante 25 minutos.

Las proporciones empleadas de los distintos ingredientes para 100 gr de hamburguesa son los siguientes:

- Soja texturizada hidratada: 75-85 gr, preferentemente 80 gr.
- Mezcla de algas cocidas en el fumé preparado previamente: 13-14 gr, preferentemente 13,5 gr.
- *Ulva* sp. fresca: 1-2 gr, preferentemente 1,5 gr.
- *Ulva* sp. deshidratada en polvo: 0,5 gr aproximadamente.
- Gelificante: 2-3 gr, preferentemente 2,5 gr.
- Sal: una pizca de sal, 0,5 gr aproximadamente.

#### 5.6.2. Características organolépticas

Las características organolépticas se definieron por cinco personas del Área de Tecnología de los Alimentos con experiencia en la evaluación de nuevos productos desarrollados en el mismo. A continuación, se describen cada uno de los productos desarrollados en este capítulo:

- ***Mousse de algas frescas***
  - Aspecto: color verde manzana con tonos oscuros aportados por la presencia de la especie *Ulva* sp.
  - Aroma: agradable y fresco con notas vegetales sobre fondo marino.

- Textura: suave y ligera, en la que las burbujas de aire se fusionan con la presencia del alga.
- Sabor: vegetal ligeramente salado resaltando su carácter marino.

- ***Aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas***

- Aspecto: color miel con reflejos verdosos.
- Aroma: intensidad aromática característica del vinagre de Jerez, pero con notas marinas, yodadas y minerales.
- Sabor: intenso, propio del vinagre de Jerez con notas marinas de fondo que permanecen en el retrogusto recordando a productos con presencia de umami.

- ***Snack de algas***

- Aspecto: color similar al pan horneado con presencia de virutas verdosas aportadas por *Ulva* sp.
- Aroma: similar a otros productos del mismo género, pero con la particularidad que aportan las algas, aroma marino destacable de fondo.
- Textura: crujiente y muy apetecible.
- Sabor: original, marino y con un toque salado que incita a seguir consumiendo el producto.

- ***Galletas saladas***

- Aspecto: apetecible, similar a otras galletas de mantequilla, pero pudiendo apreciar los trozos de algas que dan un toque original al producto.
- Aroma: poco intenso predominando el aroma típico a mantequilla.
- Textura: agradable en boca, sin apreciar diferencias de textura debido a la inclusión de las algas, masa unificada y de masticabilidad fácil.
- Sabor: poco intenso, notas sutiles a algas.

- ***Pesto marino***

- Aspecto: color verde intenso, similar al pesto de albahaca, con trocitos apreciables del queso y los piñones. Es un producto atractivo que recuerda a producto artesanal
- Aroma: agradable a mar con presencia de notas a queso, sin llegar a saturar en nariz.
- Textura: cremosa y con presencia de grumos procedente del queso y los piñones.
- Sabor: único, puede llegar a considerarse un trampantojo, esperando un sabor a albahaca que sorprende en boca al apreciar los atributos propios de la lechuga de mar.

- ***Hamburguesa vegana con algas***

- Aspecto: presenta un aspecto particular, la soja texturizada asemeja a las hamburguesas de pollo, resaltando el color verde de la *Ulva* sp. fresca que la hace muy original.
- Aroma: aroma marino, pero no muy intenso, es agradable.
- Textura: similar a cualquier hamburguesa de carne blanca (pollo, pavo, etc.) y con homogeneidad a pesar de presentar algunos trozos de alga más grandes su masticabilidad es suave e uniforme.
- Sabor: agradable en boca y posiblemente una buena opción para los consumidores veganos, ya que aporta sabores nuevos a este tipo de productos.

## 5.7. Aceptabilidad de los productos

### 5.7.1. *Análisis sensorial*

Para la determinación de aceptabilidad de los nuevos productos elaborados con algas se utilizaron pruebas hedónicas, las cuales miden el grado de aceptación de los productos y la posibilidad de determinar las preferencias entre dos o más productos por una población de consumidores determinada. Existen dos grupos principales de pruebas hedónicas y establecen diferentes tareas para el consumidor, según la Normativa UNE-ISO 11136 (2014):

- a) Pruebas de aceptabilidad, utilizadas para medir la intensidad del placer al consumir. En esta norma internacional, el único tipo de prueba de aceptabilidad descrita es la prueba de clasificación con ayuda de una escala.
- b) Pruebas de preferencia, utilizadas para medir el orden en el que a los consumidores les gustan los diferentes productos (por ejemplo, "¿Qué muestra le gusta más? o "Por favor, ordene los productos presentados del que menos le gusta a que más le gusta"). Las pruebas de preferencia se subdividen en:
  - Pruebas de comparación por parejas, cuando se comparan dos muestras.
  - Pruebas de ordenación, cuando se trata de más de dos muestras.

Para la determinación de preferencia de todos los productos desarrollados con algas se selecciona la prueba de ordenación, ya que se evalúan más de dos muestras. Para llevar a cabo esta prueba se siguen las pautas que especifica la Norma UNE-ISO 8587 (2010) y se seleccionan dos tipos de perfil de catadores:

1. Estudiantes del Máster en Agroalimentación de la Universidad de Cádiz, donde todos los jueces presentan el mismo nivel de cualificación, aunque a priori poco familiarizados con el consumo de algas. Este grupo se llamará a partir de ahora grupo 1 o "no-entrenado".
2. Asistentes a una jornada específica de algas, donde todos los asistentes, a priori, están más familiarizados con las algas y productos derivados. Este grupo se llamará a partir de ahora grupo 2 o "semi-entrenado".

Se realizan dos pruebas diferentes, pero ambas con el mismo propósito, la medición del grado de satisfacción mediante escalas afectivas de respuesta cuantitativa, para medir la reacción totalmente subjetiva de las muestras. Las elaboraciones para ambas sesiones se llevan a cabo en un área de preparación de muestras con la antelación necesaria para presentar cada una de ellas en su estado óptimo. En ambas pruebas se presentan cuatro productos, en el caso de la sesión para jueces no entrenados (grupo 1) se cuenta con 27 catadores y se evalúan los siguientes productos: *mousse de algas frescas*, *snack de algas*, *galletas saladas de algas* y *pesto marino*. Para la sesión de cata de preferencia con jueces semi-entrenados (grupo 2) se cuenta con 29 catadores y se evalúan los siguientes productos: *mousse de algas frescas*, *aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas*, *pesto marino* y *hamburguesa vegana de algas*. Dos de los productos, por lo tanto, fueron evaluados por ambos grupos (mousse y pesto), mientras que los otros dos fueron diferentes y adaptados al nivel de conocimiento sobre algas y productos derivados de los jueces. Así, en el caso del grupo de jueces no entrenados se elaboraron dos productos más cercanos al consumidor como los snacks y las galletas saladas.

El procedimiento de presentación de las muestras en ambos ensayos se lleva a cabo fuera de la vista de los jueces, para evitar que saquen conclusiones a partir de su forma de presentación. Para ello se preparan todos de la misma forma en cuanto a utensilios empleados, recipientes, cantidad de productos, temperatura y presentación. Todas las diferencias irrelevantes entre las muestras se enmascaran para evitar que influyan en la evaluación. La presentación de los productos se realiza en un diseño en “bloques completos”, en la que ambos grupos evalúan los cuatro productos en la misma sesión.

Para la evaluación de los productos se utilizaron dos medidas, primero se les entrega una ficha en la cual puntúan cada producto del 1 al 5, utilizando una escala hedónica desde me disgusta (1) a me encanta (5) (Anexo IV). Una vez evaluada la aceptabilidad de los productos, se les entrega una segunda ficha de ordenamiento por preferencia donde cada juez ordena todas las muestras según preferencia, siendo 4 el producto más valorado y 1 el producto menos valorado. Durante esta segunda prueba se les indica a los jueces que deben evitar el empate entre dos muestras, ordenando de menor a mayor la preferencia de los productos evaluados.

A continuación, los jueces (no-entrenados y semi-entrenados) registran en una tabla el orden de preferencia de las distintas muestras valoradas siguiendo el formulario de la Figura 5.8.

1. A continuación, **pruebe** (si aún no lo ha hecho) las 4 muestras.

2. Coloque en la tabla inferior sus códigos, por **orden creciente** de preferencia (de menor a mayor).

Preferencia GUSTATIVA	Menos	→	→	Más
Código				

**COMENTARIOS.** Intente describir las diferencias que detecta entre los productos con algas

.....

.....

.....

**Figura 5.8.** Ficha de ordenamiento por prueba de preferencia gustativa.

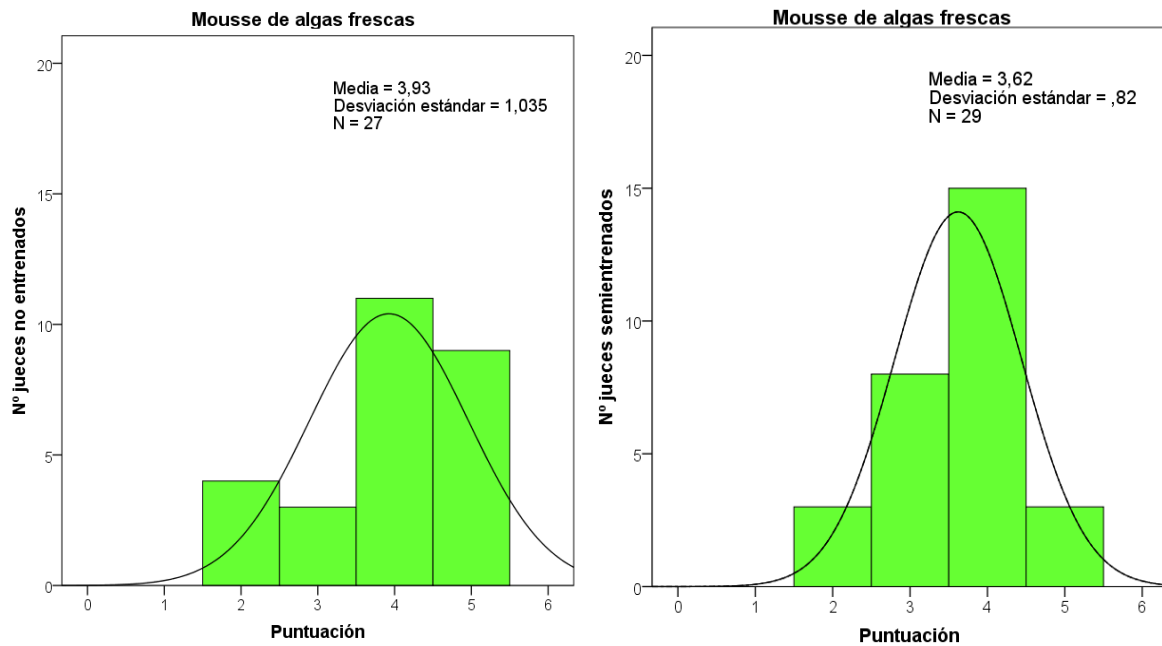
### 5.7.2. Evaluación de los resultados

Una vez finalizadas las catas, se realiza la recopilación de datos de los dos grupos evaluados con el primer formulario (ficha hedónica) y se representa un histograma para determinar la frecuencia de los valores representados (1 al 5) en todos los productos. Este diagrama de frecuencia sirve para obtener una primera vista general de la distribución de la población respecto a la aceptabilidad de los productos de algas de forma cuantitativa y continua.

Para ello, primero se comparan los resultados obtenidos en ambos grupos para los mismos productos. En el mousse de algas frescas (Figura 5.9.) se observan mejores puntuaciones en el grupo 1, debido a la mayor selección de “me encanta”, aunque atendiendo a la media y las desviaciones estándar las diferencias no son muy significativas, en el grupo 1 hay más jueces que dan la puntuación máxima a este producto.

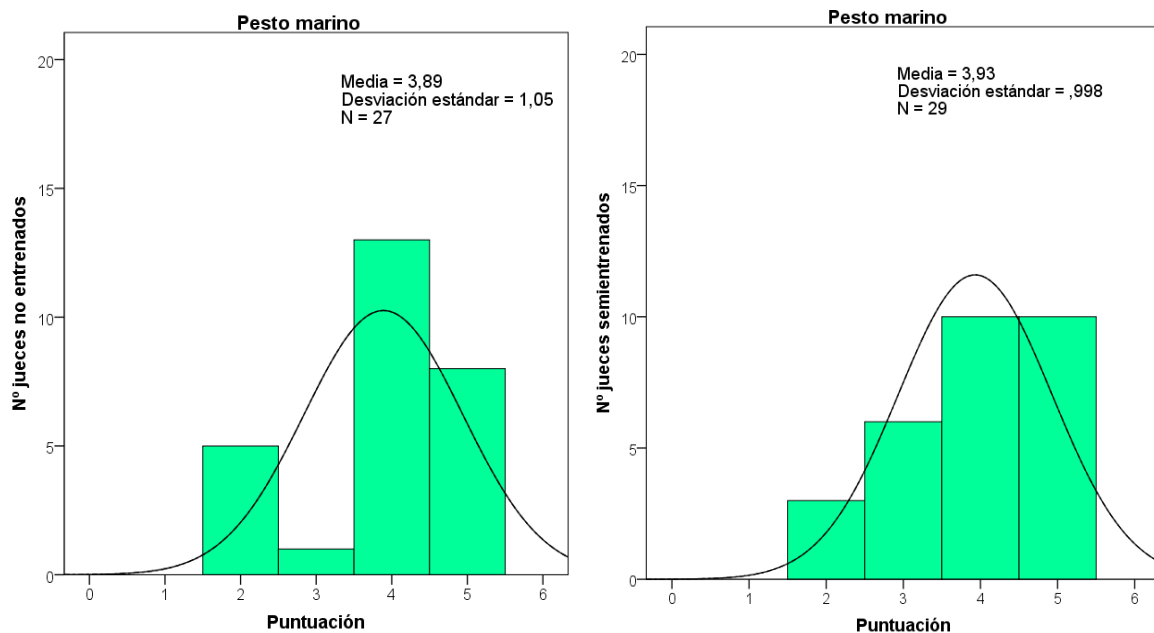
En el caso del pesto marino (Figura 5.10.), ambos grupos presentaron puntuaciones bastante elevadas, con valores de 4 y 5, siendo muy similares las medias obtenidas. Podría destacarse que en el grupo 1 hubo pocas valoraciones de indiferencia, y destaca por el número de jueces que selecciona “me gusta”.





**Figura 5.9.** Diagrama de frecuencia obtenido para el mousse de algas frescas, a la izquierda el grupo 1 y a la derecha el grupo 2.

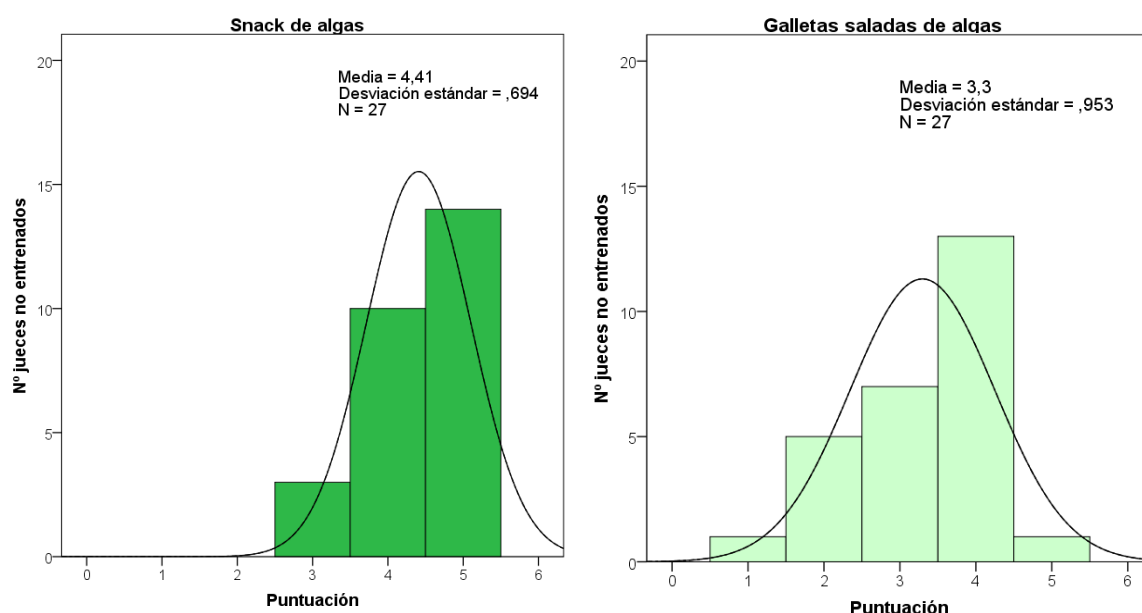
En el caso del grupo 2 destaca la selección de “me encanta” probablemente debido a la mayor familiaridad con el sabor intenso de la lechuga de mar.



**Figura 5.10.** Diagrama de frecuencia obtenido para el pesto marino, a la izquierda el grupo 1 y a la derecha el grupo 2.

La evaluación de estos dos productos en ambos grupos permite obtener información de dos poblaciones con perfiles diferentes, resultando de forma global, que el mousse de algas sería más aceptado por los consumidores no familiarizados con las algas y, por tanto, podría ser un producto interesante y novedoso dirigido a consumidores poco familiarizados con las algas y sus características sensoriales. Del mismo modo, el pesto marino presenta una evaluación con una media similar en ambos grupos, pero se observa mayor aceptación en el grupo 2, donde hay más selección de “me encanta” y menos de “no me gusta”. Luego este producto podría ir destinado a un grupo de consumidores más específico, aunque en ambos grupos presenta una buena puntuación.

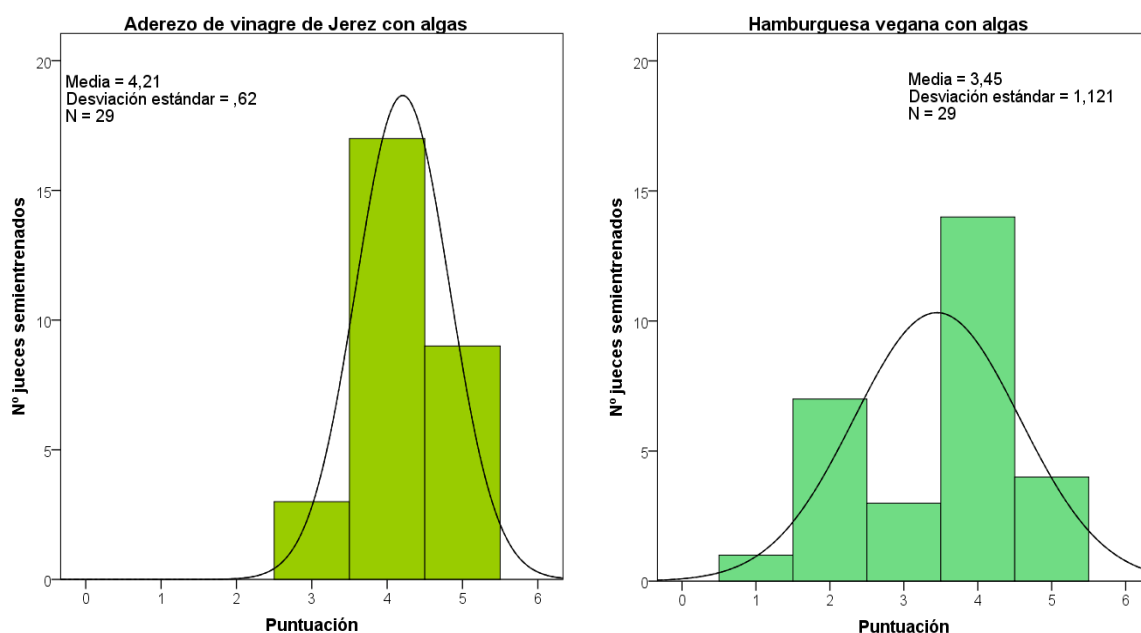
Para el caso de los productos diferentes evaluados por cada grupo, los resultados se muestran en las Figuras 5.11. (grupo 1) y 5.12. (grupo 2). Entre el snack de algas y las galletas saladas de algas (Figura 5.11.) el primero es el mejor valorado con una media de 4,41 y no presenta ninguna puntuación negativa (me disgusta o no me gusta). Por otro lado, las galletas saladas de algas presentan los valores más bajos, incluso con puntuación en “me disgusta”, obteniendo así la puntuación más baja de los cuatro productos evaluados en este grupo.



**Figura 5.11.** Diagrama de frecuencia obtenido para el aderezo con algas y la hamburguesa de algas evaluadas por el grupo 1.

Dicho resultado puede deberse al alto contenido en mantequilla presente en las galletas que puede enmascarar el resto de componentes de la formulación, incluidas las algas.

En cuanto al aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas y la hamburguesa vegana (Figura 5.12.), el aderezo presenta una puntuación similar a la obtenida en el snack de algas, con una media de 4,21, y de nuevo no presenta ninguna puntuación negativa. En cuanto a la evaluación de la hamburguesa, se observa una opinión discordante entre los catadores, obteniendo puntuaciones negativas (1, 2 y 3) y a su vez se observa un alto número de puntuaciones en "me gusta", existiendo una diferencia muy significativa entre las distintas valoraciones realizadas por los jueces. Esto podría deberse a que los paladares de los catadores del grupo 2 están más acostumbrados a las algas y sus características sensoriales y por ello, hay más variabilidad en la determinación del grado de aceptabilidad para un mismo producto.



**Figura 5.12.** Diagrama de frecuencia obtenido para el snack de algas y las galletas de algas saladas evaluadas por el grupo 2.

Atendiendo a los resultados obtenidos en ambas catas se puede decir que es importante determinar el grupo de la población, consumidores objetivo, al que iría destinado cada producto siendo uno de los factores más importantes a tener en cuenta en los estudios de mercado de nuevos productos elaborados con algas.

### 5.7.3. Análisis de varianza para ordenaciones

Finalmente se lleva a cabo un análisis de varianza para ordenaciones (ISO 8587:2006 AENOR, 2010) a través del test de Friedman, el cual determina el grado de probabilidad con el que se puede demostrar que los jueces reconocen diferencias entre las muestras. Este método es muy utilizado en la industria alimentaria, sobre todo, para el sondeo y posterior lanzamiento al mercado de nuevos productos. Para llevar a cabo el test, una vez realizada la degustación se les indica a los jueces de ambas sesiones, que ordenaran los productos según preferencia hedónica, de tal modo que se pueda detectar si existen diferencias de aceptación entre los productos elaborados con algas. Una vez ordenados los productos, según indica la norma, se les asigna puntuación creciente según el orden de preferencia, como se explicó anteriormente (del 1 al 4). Una vez obtenidos los resultados se calculan las sumas de ordenaciones  $R_1, R_2, \dots, R_p$  de las  $p$  muestras para los  $j$  jueces. Según la norma, si  $\Gamma_1, \dots, \Gamma_p$  son las sumas de ordenaciones teóricas de las  $p$  muestras, la hipótesis nula de ausencia de diferencias entre las muestras se puede expresar:

$$H_0 : \Gamma_1 = \dots = \Gamma_p$$

La hipótesis alternativa es que las sumas de ordenaciones de la población no son iguales. Para el diseño de bloques completos, el valor del test de Friedman es:

$$F_{test} = \frac{12}{j * p * (p + 1)} * (R_1^2 + \dots + R_p^2) - 3 * j * (p + 1)$$

Donde  $R_i$  es la suma de ordenaciones del producto  $i$ .

Si  $F_{test} > F$  de la Tabla 5.1. de valores críticos ( $F$ ) del test de Friedman, considerando el número de catadores, el número de productos y el riesgo asumido, se rechaza  $H_0$  y se concluye que hay diferencias consistentes entre las ordenaciones de los productos.

El test de Friedman se aplica para ambos grupos de jueces de forma independiente, ya que el test se aplica cuando  $j$  jueces han ordenado los mismos  $p$  productos.

**Tabla 5.1.** Valores críticos ( $F$ ) del test de Friedman (riesgos de 0,5 y 0,1) (tabla 4 de la norma 8587:2006).

Número de jueces $j$	Número de muestras (o productos) $p$									
	3	4	5	6	7	3	4	5	6	7
	Nivel de significación $\alpha = 0,05$					Nivel de significación $\alpha = 0,01$				
7	7,14	7,80	9,11	10,62	12,07	8,86	10,37	11,97	13,69	15,35
8	6,25	7,65	9,19	10,68	12,14	9,00	10,35	12,14	13,87	15,53
9	6,22	7,66	9,22	10,73	12,19	9,67	10,44	12,27	14,01	15,68
10	6,20	7,67	9,25	10,76	12,23	9,60	10,53	12,38	14,12	15,79
11	6,54	7,68	9,27	10,79	12,27	9,45	10,60	12,46	14,21	15,89
12	6,17	7,70	9,29	10,81	12,29	9,50	10,68	12,53	14,28	15,96
13	6,00	7,70	9,30	10,83	12,37	9,38	10,72	12,58	14,34	16,03
14	6,14	7,71	9,32	10,85	12,34	9,00	10,76	12,64	14,40	16,09
15	6,40	7,72	9,33	10,87	12,35	8,93	10,80	12,68	14,44	16,14
16	5,99	7,73	9,34	10,88	12,37	8,79	10,84	12,72	14,48	16,18
17	5,99	7,73	9,34	10,89	12,38	8,81	10,87	12,74	14,52	16,22
18	5,99	7,73	9,36	10,90	12,39	8,84	10,90	12,78	14,56	16,25
19	5,99	7,74	9,36	10,91	12,40	8,86	10,92	12,81	14,58	16,27
20	5,99	7,74	9,37	10,92	12,41	8,87	10,94	12,83	14,60	16,30
$\alpha$	5,99	7,81	9,49	11,07	12,59	9,21	11,34	13,28	15,09	16,81
NOTA 1	El estadístico $F$ puede tomar valores discontinuos, siendo esta discontinuidad muy pronunciada para pequeños valores de $j$ y $p$ . En consecuencia, no es posible obtener valores críticos que correspondan exactamente a los riesgos 0,05 y 0,01.									
NOTA 2	Los valores en cursiva se obtuvieron mediante la aproximación a la distribución $\chi^2$ .									

Los resultados del test de ordenación para los productos evaluados con los jueces no entrenados (grupo 1) y los semi entrenados (grupo 2) se muestran en las Tabla 5.2. y 5.3. respectivamente. Como se puede observar en la Tabla 5.2., para el grupo 1 el valor de  $F$  (36,02) fue superior al obtenido en la Tabla 5.1. para  $j=27$  y  $p=4$ , para el nivel de significación de 0,05 (7,81). Por tanto, se pudo concluir que se percibieron diferencias consistentes entre las ordenaciones de los cuatro productos.

**Tabla 5.2.** Resultados del test de ordenación obtenido en la evaluación sensorial de los jueces no entrenados.

Producto	Puntuación	Catadores	F test	Significancia ( $\alpha$ )
Mousse de algas frescas	77	27	36,02	0,05
Pesto marino	59			
Snack de algas	94			
Galletas saladas de algas	40			

**Tabla 5.3.** Resultados del test de ordenación obtenido en la evaluación sensorial de los jueces semi-entrenados.

Producto	Puntuación	Catadores	F test	Significancia ( $\alpha$ )
Mousse de algas frescas	68	29	7,30	0,05
Pesto marino	71			
Aderezo de vinagre con algas	88			
Hamburguesa vegana de algas	63			

En el caso del grupo 2 (Tabla 5.3.) dicho valor fue de 7,30, inferior al valor crítico obtenido en la Tabla 5.1. para  $j=29$  y  $p=4$  en el nivel de significación de 0,05 (7,81). Aunque F no supera el valor crítico, el valor obtenido es muy cercano. Se puede determinar que, con un riesgo de error inferior o igual el 5%, se aprecian diferencias entre los cuatro productos. Aunque para su confirmación se determina qué productos son significativamente diferentes con respecto a los demás, a través del cálculo de la Mínima Diferencia Significativa (MDS) para el riesgo global asumido ( $\alpha = 0,05$ ):

$$MDS = z \frac{\sqrt{j * p(p + 1)}}{6}$$

El valor MDS obtenido para el grupo 1 es 18,59 para un riesgo 0,05 y las diferencias observadas entre las ordenaciones de dos productos teniendo en cuenta los diferentes productos: mousse de algas frescas (A), pesto marino (B), snack de algas (C) y galleta salada de algas (D) fueron las siguientes:

- A – B:  $| 77 - 59 | = 18 < 18,59$
- A – C:  $| 77 - 94 | = 17 < 18,59$
- A – D:  $| 77 - 40 | = 37 > 18,59$
- B – C:  $| 59 - 94 | = 35 > 18,59$
- B – D:  $| 59 - 40 | = 19 > 18,59$
- C – D:  $| 94 - 40 | = 54 > 18,59$

Como se puede observar, los resultados muestran diferencias significativas entre la galleta salada (D) y el resto de productos (A, B y C), destacando una gran diferencia con el snack de algas (C). Además, las dos comparativas que fueron menores al valor MSD, fueron cercanas al valor por lo que podría considerarse que existen diferencias entre todas las muestras.

En definitiva, se observa una clara diferencia en la preferencia por cada uno de los cuatro productos de algas con el siguiente orden: snack > mousse > pesto > galletas saladas. Para el caso del grupo 2 el valor MDS obtenido es 19,27 para un riesgo 0,05, y las diferencias observadas entre los productos, mousse de algas frescas (A), pesto marino (B), aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas (C) y hamburguesa vegana de algas (D) fueron las siguientes:

- A – B:  $|68 - 71| = 3 < 19,27$
- A – C:  $|68 - 88| = 20 > 19,27$
- A – D:  $|68 - 63| = 5 < 19,27$
- B – C:  $|71 - 88| = 17 < 19,27$
- B – D:  $|71 - 63| = 8 < 19,27$
- C – D:  $|88 - 63| = 25 < 19,27$

En este caso solo se observaron diferencias significativas entre las preferencias por el aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas (C), mostrando diferencias con el resto de productos. Se observa como el mousse (A) y el pesto (B) no muestran diferencias de preferencia. Además, existen diferencias de estos tres productos con la hamburguesa vegana (D) siendo la menos valorada. En este grupo el aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas se prefiere de manera significativa al resto de producto, no existiendo diferencias de aceptabilidad entre estos tres (A, B y D).

## 5.8. Conclusiones

Atendiendo a los resultados obtenidos, las características nutricionales, funcionales y tecnológicas de *Ulva* sp. recolectada en los esteros de la Bahía de Cádiz permiten el diseño y desarrollo de productos a base de algas más cercanos al consumidor. Es posible elaborar gran diversidad de productos innovadores de gran valor nutricional y sensorial atendiendo a distintas tipologías (emulsiones, salsa, condimentos, snacks o alimentos procesados). En este sentido, en el presente trabajo se han desarrollado hasta 6 productos: mousse de algas, vinagre de Jerez aromatizado con algas, pesto marino, snacks de algas, galletitas de algas y hamburguesa vegana de algas. La mayor o menor aceptación de estos productos depende del grupo objetivo que realiza la cata (no entrenado o semi-entrenado) y la familiaridad de estos con las algas y los productos derivados. En la evaluación hedónica se muestran algunas diferencias en la aceptación de los distintos productos en ambos grupos. Estas diferencias se observan en la prueba realizada posteriormente de preferencia, presentando diferencias significativas entre todos los productos evaluados en grupo 1 (no entrenado) donde el producto mejor valorado fue el snack de algas seguido de la mousse mientras que las preferencias del grupo 2 (semi-entrenado) se centran en el vinagre de Jerez aromatizado existiendo diferencias significativas con respecto al resto de productos evaluados.



## 5.9. Bibliografía

- Caleja, C., Ribeiro, A., Barreiro, M., Ferreira, I.C.F.R., 2017. Phenolic compounds as nutraceuticals or functional food ingredients. *Curr. Pharm. Desing* 23, 2787–2806. <https://doi.org/10.2174/1381612822666161227153906>
- Chang, H.C., Chen, H.H., Hu, H.H., 2011. Textural changes in fresh egg noodles formulated with seaweed powder and full or partial replacement of cuttlefish paste. *J. Texture Stud.* 42, 61–71. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00268.x>
- Chang, H.C., Wu, L.C., 2008. Texture y quality properties of Chinese fresh egg noodles formulated with green seaweed (*Monostroma nitidum*) powder. *J. Food Sci.* 73. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00912.x>
- Cheshire, A., Nayar, S., Roos, G., 2019. Understanding the macroalgal value chain: from production to post-harvesting processing, in: *Harnessing Marine Macroalgae for Industrial Purposes in an Australian Context*. 1–21. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-5577-3.ch001>
- Circuncisão, A.R., Catarino, M.D., Cardoso, S.M., Silva, A.M.S., 2018. Minerals from macroalgae origin: Health benefits and risks for consumers. *Mar. Drugs* 16. <https://doi.org/10.3390/md16110400>
- Cofrades, S., Benedí, J., Garcimartin, A., Sánchez-Muniz, F.J., Jimenez-Colmenero, F., 2017. A comprehensive approach to formulation of seaweed-enriched meat products: From technological development to assessment of healthy properties. *Food Res. Int.* 99, 1084–1094. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.029>
- FAO, 2014. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. FAO 274. <https://doi.org/978-92-5-308275-9> ISSN1020-5500
- Gallego, R., Bueno, M., Herrero, M., 2019. Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae – an update. *TrAC Trends Anal. Chem.* 1–52. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.030>
- Ibañez, E., Herrero, M., Mendiola, J.A., Castro-Puyana, M., 2012. Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: Macro and micro algae, cyanobacteria and invertebrates, in: *Marine Bioactive Compounds: Sources, Characterization and Applications*. 55–98. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1247-2>
- Jannat-Alipour, H., Rezaei, M., Shabanpour, B., Tabarsa, M., 2019. Edible green seaweed, *Ulva intestinalis* as an ingredient in surimi-based product: chemical composition and physicochemical properties. *J. Appl. Phycol.* <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1744-y>
- Li, W., Jiang, N., Wan, M., Chang, X., Liu, D., Qi, H., Liu, S., Wang, K., Liu, X., 2018. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of purified polysaccharides from *Ulva pertusa*. *J. Appl. Phycol.* 30, 2619–2627. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1475-5>
- Mamat, H., Matanjun, P., Ibrahim, S., Siti, S.F., Abdul Hamid, M., Rameli, A.S., 2014. The effect of seaweed composite flour on the textural properties of dough and bread. *J. Appl. Phycol.* 26, 1057–1062. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0082-8>
- Mamatha, B.S., Namitha, K.K., Senthil, A., Smitha, J., Ravishankar, G.A., 2007. Studies on use of *Enteromorpha* in snack food. *Food Chem.* 101, 1707–1713. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.032>

- Norambuena, F., Skrzypczyk, V.M., Bellgrove, A., Hermon, K.M., Keast, R., Turchini, G.M., Norambuena, F., Turchini, G.M., Keast, R., Bellgrove, A., 2019. Is Australian seaweed worth eating? Nutritional and sensorial properties of wild-harvested Australian versus commercially available seaweeds. *J. Appl. Phycol.* 31, 709–724. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1530-2>
- Pereira, H., Barreira, L., Figueiredo, F., Custódio, L., Vizetto-Duarte, C., Polo, C., Rešek, E., Aschwin, E., Varela, J., 2012. Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Mar. Drugs* 10, 1920–1935. <https://doi.org/10.3390/md10091920>
- Rahimi, F., Tabarsa, M., Rezaei, M., 2016. Ulvan from green algae *Ulva intestinalis*: optimization of ultrasound-assisted extraction and antioxidant activity. *J. Appl. Phycol.* 28, 2979–2990. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0824-5>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Solieri, L., Giudic, P., 2009. *Vinegars of the World*. Springer, Milan. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-88-470-0866-3>
- UNE-ISO, 2014. Análisis sensorial. Metodología. Guía general para la realización de pruebas hedónicas con consumidores en una zona controlada.
- UNE-ISO, 2010. Análisis sensorial. Metodología. Ordenación. AENOR.
- Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E., Brawley, S.H., 2017. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J. Appl. Phycol.* 29, 949–982. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0974-5>
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H., 2011. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chem.* 128, 895–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.114>

## Índice de figuras

<b>Figura 5.1.</b> Mousse de algas frescas ALGARO.....	237
<b>Figura 5.2.</b> Aderezo de vinagre de Jerez aromatizado con algas.....	238
<b>Figura 5.3.</b> Snack de algas.....	239
<b>Figura 5.4.</b> Galleta salada de algas.....	239
<b>Figura 5.5.</b> Pesto marino.....	240
<b>Figura 5.6.</b> Hamburguesa vegana de algas.....	241
<b>Figura 5.7.</b> Degustación de productos con algas durante en la jornada .....	241
<b>Figura 5.8.</b> Ficha de ordenamiento por prueba de preferencia gustativa .....	253
<b>Figura 5.9.</b> Diagrama de frecuencia obtenido para el mousse de algas frescas .....	254
<b>Figura 5.10.</b> Diagrama de frecuencia obtenido para el pesto marino .....	254
<b>Figura 5.11.</b> Diagrama de frecuencia obtenido para el aderezo con algas y la hamburguesa de algas evaluadas por el grupo 1 .....	255
<b>Figura 5.12.</b> Diagrama de frecuencia obtenido para el snack de algas y las galletas de algas saladas evaluadas por el grupo 2 .....	256

## Índice de tablas

<b>Tabla 5.1.</b> Valores críticos ( $F$ ) del test de Friedman .....	258
<b>Tabla 5.2.</b> Resultados del test de ordenación obtenido en la evaluación sensorial de los jueces no entrenados .....	258
<b>Tabla 5.3.</b> Resultados del test de ordenación obtenido en la evaluación sensorial de los jueces semi entrenados .....	259



**ANEXOS**

# **Anexo I**

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 425 606**

21 Número de solicitud: 201200405

51 Int. Cl.:

**A23L 1/337** (2006.01)

12

## PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

**12.04.2012**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**16.10.2013**

Fecha de la concesión:

**29.01.2014**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**05.02.2014**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (100.0%)  
OTRI-Vicerrectorado de I+D+i C/ Benito Pérez  
Galdós s/n  
11002 Cádiz (Cádiz) ES**

72 Inventor/es:

**PALACIOS MACÍAS, Víctor Manuel;  
ROLDÁN GÓMEZ, Ana María;  
SÁNCHEZ GARCÍA, Josefina y  
AMORES ARROCHA, Antonio**

54 Título: **Mousse de algas frescas**

57 Resumen:

Mousses de algas frescas de estero de las de las especies *Ulva* sp. (alga verde) y/o *Gracilaria* sp. (alga roja), recolectadas en los esteros del Parque Natural de la Bahía de Cádiz, junto con otros ingredientes complementarios (nata baja en grasa, aceite de oliva virgen, harina de trigo, flor de sal y lecitina de soja) en las proporciones adecuadas y por su característico proceso de elaboración.

La presente invención presenta un producto novedoso e innovador, muy distinto a los existentes en la actualidad, de elevada calidad sensorial, cuidada elaboración y de fácil consumo, siendo no sólo innovador en cuanto a la materia prima utilizada (algas de estero de la bahía de Cádiz) y sus ingredientes, sino también en cuanto al tipo de elaboración llevada a cabo para obtener la textura de mousse deseada.

ES 2 425 606 B2

# **Anexo II**

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 068**

21 Número de solicitud: 201700193

51 Int. Cl.:

**A23L 27/60** (2006.01)

**A23L 17/60** (2006.01)

**A23L 27/10** (2006.01)

12

## PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

**10.03.2017**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**11.09.2018**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

**15.11.2018**

Fecha de concesión:

**20.02.2019**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**27.02.2019**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (100.0%)**

**C/ Ancha, 16**

**11001 Cádiz (Cádiz) ES**

72 Inventor/es:

**SÁNCHEZ GARCÍA, Josefina;**

**PALACIOS MACÍAS, Víctor Manuel y**

**ROLDÁN GÓMEZ, Ana María**

54 Título: **Aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas de estero y procedimiento de obtención**

57 Resumen:

Aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas de estero y procedimiento de obtención, donde se fusiona la acidez, la frescura y la potencia aromática y gustativa del vinagre de Jerez con las natas marinas, yodadas y minerales de las algas, lo que la hacen ideal para multitud de aplicaciones culinarias.

El área científica al que corresponde la invención es el área de tecnología de alimentos.

El aderezo se obtiene mediante la maceración de algas de estero del género Ulva o Gracilaria (2-3%) en vinagre de jerez categoría "reserva" (97-98%) durante 24-48 horas a 20-25°C, en un depósito de acero inoxidable provisto de un sistema de control de temperatura, agitador de palas y un homogeneizador ultrasónico. El producto se decanta y se filtra por placas en profundidad antes de su envasado.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP 11/1986.

ES 2 681 068 B2



# **Anexo III**

# Las macroalgas: ¿Una opción de futuro en el entorno de la bahía de Cádiz?

15 DE FEBRERO 2017

Centro Tecnológico de la  
Acuicultura de Andalucía

Muelle Comercial S/N  
El Puerto de Santa María  
Cádiz

## PROGRAMA:

09:30 - 10:00	RECEPCIÓN DE PARTICIPANTES
10:00 - 11:00	CONFERENCIA <i>"Potencial de la Bahía de Cádiz para la recolección y cultivo de macroalgas y su aprovechamiento gastronómico"</i> PROYECTO EALGA. Ignacio Hernández (Grupo "Estructura y Dinámica de Ecosistemas Acuáticos" Universidad de Cádiz) Víctor Palacios (Grupo "Ingeniería y Tecnología de los Alimentos" Universidad de Cádiz)
11:00 - 11:30	Pausa café
11:30 - 12:00	CONFERENCIA <i>"Sostenibilidad en la explotación de macroalgas mediante el uso de indicadores"</i> Javier Cremades (Grupo "Investigación en Biología Costera" Universidad de La Coruña)
12:00 - 12:45	MESA DE TRABAJO <i>"Las macroalgas: ¿una opción de futuro en el entorno de la Bahía de Cádiz?"</i> Consuelo Guerra (Suralgas), Helena Abreu (Algaplus), Jesús Matilla (Entrebaires), Juan Luis Fernández (Aponiente)
12:45 - 13:00	Pausa
13:00 - 14:00	TALLER GASTRONÓMICO <i>"¿Las algas se comen?"</i> PRESENTACIÓN Y DEGUSTACIÓN DE PRODUCTOS Víctor Palacios (Grupo "Ingeniería y Tecnología de los Alimentos" Universidad de Cádiz)



Proyecto realizado por:



En colaboración con:



Con el apoyo de:



Financiado por:



INSCRIPCIONES:

[www.ctaqua.es](http://www.ctaqua.es)



# **Anexo IV**

### EVALUACIÓN SENSORIAL DE PRODUCTOS A BASE DE ALGAS

(Marque con una X la carita que describa su opinión sobre los productos que acaba de probar)

○ MOUSSE DE ALGAS FRESCAS



Observaciones:

○ SNACK DE ALGAS



Observaciones:

○ GALLETAS SALADAS DE ALGAS



Observaciones:

○ PESTO MARINO



Observaciones:

## EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS PRODUCTOS ELABORADOS CON ALGAS

(Marque con una X la carita que describa su opinión sobre los productos que acaba de probar)

### ○ MOUSSE DE ALGAS FRESCAS



Comentarios:

### ○ ADEREZO DE VINAGRE DE JEREZ AROMATIZADO CON ALGAS



Comentarios:

### ○ PESTO MARINO



Comentarios:

### ○ HAMBURGUESA VEGANA DE ALGAS



Comentarios:





## Capítulo 6

### Comparativa de *Ulva rigida* de estero con Ulvales de otras áreas y perspectivas futuras



Experiencia piloto de cultivo de algas por el proyecto INTEGRATE desarrollada en Ctaqua

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 6





## INDICE

<b>6. Potencial de <i>Ulva rigida</i> de estero y otras Ulvales de otras áreas.....</b>	<b>281</b>
<b>6.1. Propiedades nutricionales y tecnológicas.....</b>	<b>281</b>
<i>6.1.1. Propiedades nutricionales.....</i>	<i>281</i>
<i>6.1.2. Propiedades tecnológicas.....</i>	<i>284</i>
<b>6.2. Perspectivas futuras .....</b>	<b>285</b>
<i>6.2.1. Caracterización de otras especies procedentes de los esteros gaditanos.....</i>	<i>286</i>
<i>6.2.2. Cultivo de algas en los esteros gaditanos.....</i>	<i>286</i>
<i>6.2.3. Elaboración de bebidas a base de algas.....</i>	<i>289</i>
<b>6.3. Bibliografía .....</b>	<b>291</b>
 <b>Índice de figuras.....</b>	<b>293</b>
<b>Índice de tablas.....</b>	<b>293</b>



## 6. Potencial de *Ulva rigida* de estero y otras Ulvales de otras áreas

Esta Tesis Doctoral fue diseñada para proporcionar información sobre las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas de la lechuga de mar recolectada en los esteros gaditanos. Asimismo, se ha estudiado su vida útil y su evolución durante el período poscosecha para optimizar los tiempos de frescura. Por último, se ha abordado los efectos de algunos tratamientos de cocción a su composición y se han diseñado y desarrollado nuevos productos con *Ulva* sp. de estero como ingrediente principal. Finalmente, y con objeto de estudiar de manera global el potencial de esta alga en nuestro entorno, se realiza en primer lugar, un estudio comparativo con otras *Ulva* spp. recolectadas en otras partes del mundo, y en segundo, un resumen de las perspectivas futuras de investigación y desarrollo de las algas en nuestro entorno.

### 6.1. Propiedades nutricionales y tecnológicas

Como se ha determinado en el Capítulo 2, *U. rigida* de estero muestra diferencias significativas estacionales en su composición debido a las condiciones ambientales particulares producidas en estos sistemas durante la temporada de cierre de compuertas para la extracción de sal. Los parámetros fisicoquímicos del agua de mar ( $T^a$ , salinidad, pH, OD,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ ) se caracterizan por alcanzar valores extremos en esta época. Estas condiciones específicas de esta área de recolección determinan la composición y propiedades de *U. rigida*, ya que influyen en su capacidad fisiológica para asimilar y almacenar nutrientes a lo largo del año.

#### 6.1.1. Propiedades nutricionales

Para corroborar las particularidades de *Ulva rigida* recolectada en los esteros gaditanos se ha comparado el valor promedio anual de sus propiedades nutricionales con las mostradas en estudios previos de *Ulva* spp. recolectada en diferentes áreas. Esta comparativa se ha realizado para determinar si su contenido promedio presenta beneficios nutricionales iguales o superiores a los obtenidos en otros estudios previos.

Como se observa en la Tabla 6.1. en la primera columna se muestran los valores obtenidos en el Capítulo 2 y el resto de columnas presentan las propiedades nutricionales de *Ulva* spp. estudiadas por otros autores.

El contenido en humedad presenta valores similares a los obtenidos en estudios previos, siendo la *U. rigida*<sup>1</sup> de estero la que muestra el contenido más alto. En cuanto al contenido en cenizas destacan los valores de *Ulva* sp.<sup>2</sup> procedente del estuario de Barbate y *U. rigida* del estero gaditano con 34,20 y 30,18% PS, respectivamente. En el resto de estudios se observa un contenido en cenizas entre 21,30 y 17,58% PS, por lo que se puede deducir que las características que aporta esta zona favorece la acumulación de sales de las algas y, por tanto, su contenido en cenizas (Munda y Kremer, 1977).

**Tabla 6.1.** Propiedades nutricionales de diferentes *Ulva* spp. recolectadas en diferentes áreas.

% PS	<i>U. rigida</i> <sup>1</sup>	<i>Ulva</i> sp. <sup>2</sup>	<i>U. rigida</i> <sup>3</sup>	<i>U. reticulata</i> <sup>4</sup>	<i>U. lactuca</i> <sup>5</sup>	<i>U. lactuca</i> <sup>6</sup>	<i>U. rigida</i> <sup>7</sup>	<i>U. rigida</i> <sup>8</sup>
Humedad	85,63 <sup>a</sup>	84,30 <sup>a</sup>	84,50 <sup>a</sup>	22,51	10,60	85,05 <sup>a</sup>	76 <sup>a</sup>	-
Cenizas	30,18	34,20	18,03	17,58	21,30	19,59	-	19,10
Proteínas	16,71	7,21	15,78	21,06	7,06	8,46	6,64	1,83
Lípidos	4,44	3,42	1,02	0,75	1,64	7,87	12	0,37
Carbohidratos	42,60	11,70	16,74	55,77	14,60	20,53	22	-
Fibra	7,40	9,51	33,67	-	55,40	34,37	-	-
mg 100g <sup>-1</sup> PS								
Macro-mineral	7562,40	10510	-	2000	-	7793	-	-
Micro-mineral	170,06	38,90	-	226	-	48,60	-	-
Metal. pesados	1,10	-	-	-	-	2,68	-	-
SFAs (%)	75,64	24,01	46,78	72,31	-	68,97	-	59,81
MUFAs (%)	6,47	45,50	22,11	14,89	-	24,32	-	29,84
PUFAs (%)	15,85	24,22	31,69	12,78	-	6,73	-	10,34
AAET (mg g <sup>-1</sup> PS)	13,01	198,61 <sup>b</sup>	110,77 <sup>b</sup>	74,70	-	414,70 <sup>b</sup>	-	-
AAT (mg g <sup>-1</sup> PS)	73,70	788,50 <sup>b</sup>	228,08 <sup>b</sup>	212,70	-	1082,70 <sup>b</sup>	-	-

<sup>a</sup> Porcentaje de peso fresco (PF).

<sup>b</sup> mg aminoácidos g<sup>-1</sup> proteína

<sup>1</sup> Estudio presente Tesis Doctoral, recolectada en el estero de la salina La Esperanza, Cádiz.

<sup>2</sup> Sánchez-García *et al.* (2016), recolectada en el estuario de Barbate, Golfo de Cádiz.

<sup>3</sup> Paiva *et al.* (2017), recolectada en el litoral del archipiélago San Miguel, Las Azores.

<sup>4</sup> Ratana-arporn y Chirapart (2006), recolectada en la Bahía de Pattani, Tailandia del Sur.

<sup>5</sup> Wong y Cheung (2000), recolectada en Ma Wan, Noreste de Hong Kong.

<sup>6</sup> Yaich *et al.* (2011), recolectada en el litoral de Monastir, Túnez.

<sup>7</sup> Satpati y Pal (2011), recolectada en la región costera del lago Chilika, India

<sup>8</sup> Trigui *et al.* (2013), recolectada en Sidi Mansour, Túnez.

Si se observa el contenido en proteínas, *U. reticulata*<sup>4</sup> de la Bahía de Pattani, muestra el valor más alto, posiblemente debido a las condiciones ambientales extremas de dicha área con valores medios de Tª, salinidad, pH y OD de 31,4; 34,5; 7,7 y 6,3, respectivamente (Hajisamae y Yeesin, 2010). Le siguen los valores obtenidos en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero y *U. rigida*<sup>3</sup> de las Azores. Las diferencias de un 5% entre la *U. reticulata*<sup>4</sup> y nuestra *U. rigida*<sup>1</sup> de estero puede deberse a que son especies diferentes, y sobre todo a la diferencia de condiciones de las áreas de recolección. Esto último se corrobora si se observan los valores de *U. rigida*<sup>7</sup> (India) y *U. rigida*<sup>8</sup> (Túnez), que aunque son la misma especie muestran un contenido en proteína mucho más bajo (6,64 y 1,83%, respectivamente) (Nascimento *et al.*, 2014).

El contenido en lípidos en *U. rigida*<sup>1</sup> muestra un valor intermedio a los obtenidos en las algas de otras zonas de recolección. El contenido más alto se observa en *U. rigida*<sup>7</sup>, recolectada en la región costera del lago Chilika, un lagoon de agua salobre localizado en la costa oriental de la India. Esta región presenta unas condiciones ambientales medias de 31 °C, 13 ups y 8, en Tª, salinidad y pH, respectivamente (Patra *et al.*, 2010) y pueden ser las causantes de su alto contenido en lípidos, sobre todo por las altas temperaturas que presentan, como han descrito previamente otros autores (Floreto y Teshima, 1998; Harwood y Guschina, 2009). La síntesis y acumulación de carbohidratos como se ha descrito en el Capítulo 2, está influenciada por las condiciones ambientales (Suresh Kumar *et al.*, 2015), razón que explica el alto contenido en carbohidratos de *U. reticulata*<sup>4</sup>, el cual es similar al obtenido en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero si se suma el contenido en fibra (50%). Sin embargo, el contenido en fibra del alga estudiada muestra valores muy bajos en comparación a la mayoría presentados en la Tabla 6.1. y similar al obtenido en *Ulva* sp<sup>2</sup> del estuario de Barbate, la más cercana al área de estudio de la presente Tesis Doctoral.

Finalmente destacar que el contenido macro-mineral en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero presenta un valor muy superior al resto de algas estudiadas en otras áreas, debido posiblemente a la alta disponibilidad de los mismos y su gran capacidad de retención de sustancias inorgánicas (Bocanegra *et al.*, 2009; Chan y Matanjun, 2017). El contenido micro-mineral en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero tan solo se supera por *U. reticulata*<sup>4</sup> y el contenido en metales pesados tan solo ha sido estudiado en *U. lactuca*<sup>6</sup>, mostrando valores cercanos al doble de los obtenidos en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero.

El contenido en SFAs en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero muestra el contenido más alto (75,64%), junto con *U. reticulata*<sup>4</sup> presenta un contenido similar (72,31%), seguramente debido a las condiciones de temperaturas extremas elevadas en las que se desarrollan. *U. lactuca*<sup>5</sup>, *U. rigida*<sup>7</sup> y *U. rigida*<sup>3</sup> muestran valores de 68,97, 59,81 y 46,78%, respectivamente, valores superiores o cercanos al 50% del total de ácidos grasos. Siendo *Ulva* sp.<sup>2</sup> la que muestra el contenido más bajo en SFAs. El contenido en MUFAs en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero muestra el valor más bajo (6,47%) en la Tabla 6.1. en comparación con el resto de *Ulva* spp, donde se alcanzan valores cercanos al 50% (*Ulva* sp.<sup>2</sup>). Sin embargo, el contenido en PUFAs presenta un valor intermedio de 15,85%, siendo *U. rigida*<sup>3</sup> y *U. rigida*<sup>6</sup> las que presentan los contenidos más altos (31,69%) y más bajos (3,60%) respectivamente. En este caso, se corrobora que la misma especie puede presentar contenidos de PUFAs diferentes, dependiendo de las condiciones ambientales existentes en el área donde se desarrollan.

El contenido en aminoácidos ha sido más difícil compararlo con otros estudios previos debido a que los resultados en *U. rigida* de estero están determinados como aminoácidos libres (mg g<sup>-1</sup> PS) y el resto presentados en la Tabla 6.2. como aminoácidos totales. Sin embargo, hay que destacar que las particularidades del estero aportan características muy singulares a *U. rigida* como puede ser el contenido de valina, histidina y treonina como los más representativos en AAE, considerados como aminoácidos aromáticos, sobre todo la treonina (Cascio *et al.*, 2019; Lumbessy *et al.*, 2019). En cuanto a los AANE, destacan la alanina, ácido glutámico y ácido aspártico, estos dos últimos fundamentales en el sabor umami (Fernández-Segovia *et al.*, 2018; Mouritsen, 2017).

### 6.1.2. Propiedades tecnológicas

Para el uso de las algas en el desarrollo de productos o elaboraciones culinarias es muy importante conocer sus propiedades tecnológicas, ya que aportan un valor añadido, mejorando texturas o jugosidad, entre otras características de las creaciones elaboradas con algas (Fernández-Segovia *et al.*, 2018; Roohinejad *et al.*, 2017). La comparativa de estas propiedades con estudios previos ha sido más limitada, debido a que se han encontrados muy pocos trabajos realizados con *Ulva* spp. Los promedios anuales determinados en *U. rigida* de estero se han comparado con los resultados en *U. lactuca*

y *U. pertusa* recolectadas en tres áreas diferentes, Hong Kong, Túnez y Bahía de Pattani, respectivamente (Tabla 6.2.).

La capacidad de hinchamiento (CH) más alta se observa en *U. lactuca*<sup>2</sup> con casi un 8% más que en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero. La temperatura y salinidad en Ma Wan presenta un promedio de 24 °C y 25,75 ups, respectivamente (Wong y Cheung, 2003), es posible que estas condiciones favorezcan esta propiedad en el alga. *U. pertusa*<sup>4</sup> le sigue con un contenido de 4,29 mL g<sup>-1</sup> PS, siendo su Tª y salinidad media de 31,4 °C y 34,5 ups, respectivamente (Hajisamae y Yeesin, 2010). Las temperaturas de ambas zonas son superiores a la temperatura media del estero (20,71 °C), parámetro que está directamente relacionado con los valores de CH (Gao *et al.*, 2018).

**Tabla 6.2.** Propiedades tecnológicas de diferentes *Ulva* spp. recolectadas en diferentes áreas.

	<i>U. rigida</i> <sup>1</sup>	<i>U. lactuca</i> <sup>2</sup>	<i>U. lactuca</i> <sup>3</sup>	<i>U. pertusa</i> <sup>4</sup>
CH (mL g <sup>-1</sup> PS)	3,42	11,2	0,30	4,29
CRA (g g <sup>-1</sup> PS)	5,36	8,68	6,66	8,08
CRAC (g g <sup>-1</sup> PS)	5,21	0,65	1,68	1,53

<sup>1</sup> Estudio presente tesis doctoral, recolectada en el estero de la salina La Esperanza, Cádiz.

<sup>2</sup> Wong y Cheung, 2000, recolectada en Ma Wan, Noreste de Hong Kong.

<sup>3</sup> Yaich *et al.* 2011, recolectada en el litoral de Monastir, Túnez.

<sup>4</sup> Benjama y Masniyom (2011), recolectada en la Bahía de Pattani, Tailandia del Sur.

Respecto a la capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRAC) en *U. rigida*<sup>1</sup> de estero muestran valores similares. Sin embargo, no se observa el mismo comportamiento en las otras *Ulva* spp. estudiadas. Esta característica particular (valores similares en ambas capacidades) es muy interesante para mejorar las propiedades físicas y estructurales en los productos alimenticios y elaboraciones gastronómicas (Chan y Matanjun, 2017; Elleuch *et al.*, 2011; Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1999).

## 6.2. Perspectivas futuras

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral, se pueden establecer nuevas líneas y perspectivas de trabajo para un futuro próximo. A continuación, se hace un resumen de ellas.



### 6.2.1. Caracterización de otras especies procedentes de los esteros gaditanos

Existen otras especies que se desarrollan de manera natural en los esteros de la bahía de Cádiz, como pueden ser *Gracilariopsis longissima*, *Chondrachantus teedei*, *Gracilaria gracilis*, etc., rodofitas que presentan interés comercial (Mouritsen *et al.*, 2018; Pérez-Lloréns *et al.*, 2016). Dichas especies han empezado a analizarse tanto para la determinación de sus propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas, como para su uso en el desarrollo de nuevos productos y otras aplicaciones. Por lo tanto, es una línea de investigación abierta para aumentar el conocimiento sobre la composición de las algas procedentes de los esteros de la bahía de Cádiz.

### 6.2.2. Cultivo de algas en los esteros gaditanos

El proyecto Ealga, constaba de un equipo multidisciplinar conformado por dos grupos del Plan Andaluz de Investigación, Ingeniería y Tecnología de Alimentos (AGR-203) y Estructura y Dinámica de Ecosistemas Acuáticos (RNM-214). El segundo grupo ha sido el encargado de liderar las experiencias piloto para la implantación de los sistemas de cultivo en los esteros. Como ya se ha señalado en varias ocasiones en la memoria, el cultivo de algas en estero podría ser una actividad sostenible y complementaria a las ya realizadas en los mismos (obtención de sal, acuicultura).



**Figura 6.1.** Obtención de biomasa del cultivo en cuerdas en La Salina La Esperanza, a la izquierda *Gracilariopsis longissima* y a la derecha *Chondracanthus teedei*.

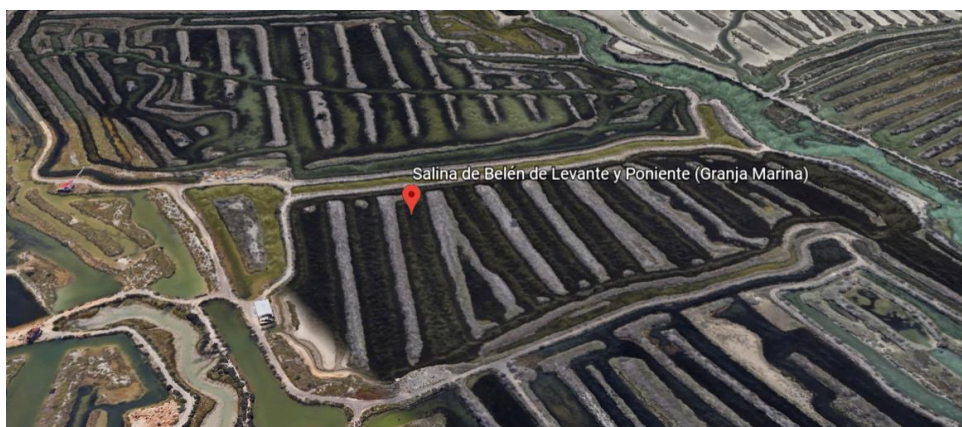
Durante el transcurso del proyecto Ealga, se han realizado experiencias piloto del cultivo en balsas de *G. longissima* y *C. teedei* en la Salina La Esperanza (localización detallada en la metodología del Capítulo 2, apartado 2.3.1.). Los primeros resultados ya han sido publicados (Bermejo *et al.*, 2019) y han servido para ir mejorando la técnica de cultivo en sistema de cuerdas, obteniendo más biomasa (Figura 6.1.) y en un futuro poder extrapolarla a un proceso más industrializado. También se realizaron experiencias piloto de cultivo en cestas de *Ulva* sp. en el estero de la salina San Judas (localización detallada en la metodología del Capítulo 3.1, apartado 3.1.3.1.) (Figura 6.2.). En este caso las condiciones del estero no fueron las idóneas, ya que se necesita más renovación de agua y características específicas para optimizar su cultivo. Sin embargo, el estudio ha servido para conseguir información para mejorar la posibilidad de su cultivo en los esteros gaditanos.



**Figura 6.2.** Cestas diseñadas para el cultivo de *Ulva* sp. y su colocación en el estero.

Por otro lado, en este apartado también se quiere resaltar que, desde junio de 2017, el Centro Tecnológico de Acuicultura de Andalucía (Ctaqua) lidera un consorcio europeo que busca el impulso de la acuicultura multitrófica integrada (IMTA). Se denomina INTEGRATE y es un proyecto financiado por FEDER a través del programa INTERREG Espacio Atlántico 2014-2020 (EAPA\_232/2016) (<http://integrate-imta.eu/es/>). Este tipo de acuicultura (IMTA) está siendo impulsada por las principales políticas de la Unión Europea (UE) como la Estrategia de Crecimiento Azul. Ctaqua es el encargado de llevar a cabo una de las acciones piloto y desarrolla un modelo IMTA estandarizado respetuoso con el medioambiente para la industria de la acuicultura semi-extensiva en la zona del Atlántico. Para ello se está llevando a cabo un cultivo de dorada, ostiones y macroalgas (*Ulva* sp. y *Gracilaria* sp.) en los esteros de la Salina de Belén (Figura 6.3.), situada al lado de la Salina La Esperanza.





**Figura 6.3.** Vista aérea de la Salina de Belén obtenida a través Google Earth.

En este caso, los resultados están siendo más fructíferos y se obtiene biomasa de macroalgas viables, debido al aporte de nutrientes que reciben de los ostiones y peces, localizados en un estero previo a donde se han situado las cestas con algas.

En estos momentos se está trabajando en la optimización del sistema de cultivo IMTA y sería una opción viable (Figura 6.4.) y podrían llegar a ser reproducibles a nivel industrial, algo que beneficiaría la reactivación de los esteros, evitando así su colmatación y, por tanto, pérdida de los mismos. Además de contribuir a la economía circular con un modelo de acuicultura sostenible y competitiva.



**Figura 6.4.** Sistema de cultivo de macroalgas de la acción piloto del Proyecto Integrate en Ctaqua.

En definitiva, el mundo de las algas tiene muchos campos aún por descubrir y, sobre todo, que todos ellos tienen la posibilidad de realizar una investigación aplicada en la mayoría de los casos, por lo que todos los resultados que se obtengan servirán para el avance y desarrollo de nuevos productos que puedan enriquecer la gastronomía y diversificación de productos en el mercado.

### 6.3. Bibliografía

- Benjama, O., Masniyom, P., 2011. Nutritional composition and physicochemical properties of two green seaweeds (*Ulva pertusa* and *Ulva intestinalis*) from the Pattani Bay in Southern Thailand. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33, 575–583.
- Bermejo, R., Macías, M., Cara, C.L., Sánchez-García, J., Hernández, I., 2019. Culture of *Chondracanthus teedei* and *Gracilariopsis longissima* in a traditional salina from southern Spain. *J. Appl. Phycol.* 31, 561–573. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1516-0>
- Bocanegra, A., Bastida, S., Benedí, J., Ródenas, S., Sánchez-Muniz, F.J., 2009. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *J. Med. Food* 12, 236–258. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0151>
- Cascio, L., Skinner, C.D., Chen, C.F., Stevenson, R.E., Pauly, R., Schwartz, C.E., Boccuto, L., Jones, K., 2019. Abnormalities in the genes that encode large amino acid transporters increase the risk of autism spectrum disorder. *Mol. Genet. Genomic Med.* 1–12. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1036>
- Chan, P.T., Matanjun, P., 2017. Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Food Chem.* 221, 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.066>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H., 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.* 124, 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Fernández-Segovia, I., Lerma-García, M.J., Fuentes, A., Barat, J.M., 2018. Characterization of Spanish powdered seaweeds: Composition, antioxidant capacity and technological properties. *Food Res. Int.* 111, 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.037>
- Floreto, E.A.T., Teshima, S., 1998. The fatty acid composition of seaweeds exposed to different levels of light intensity and salinity. *Bot. Mar.* 41, 467–481. <https://doi.org/10.1515/botm.1998.41.1-6.467>
- Gao, G., Clare, A.S., Chatzidimitriou, E., Rose, C., Caldwell, G., 2018. Effects of ocean warming and acidification, combined with nutrient enrichment, on chemical composition and functional properties of *Ulva rigida*. *Food Chem.* 258, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.040>
- Grigelmo-Miguel, N., Martín-Belloso, O., 1999. Influence of fruit dietary fibre addition on physical and sensorial properties of strawberry jams. *J. Food Eng.* 41, 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00067-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00067-9)
- Hajisamae, S., Yeesin, P., 2010. Patterns in community structure of trawl catches along coastal area of the South China Sea. *Raffles Bull. Zool.* 58, 357–368.
- Harwood, J.L., Guschina, I.A., 2009. The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie* 91, 679–684. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.11.004>
- Lumbessy, S.Y., Andayani, S., Nursyam, H., Firdaus, M., 2019. Biochemical study of amino acid profile of *Kappaphycus alvarezii* and *Gracilaria salicornia* seaweeds from gerupuk waters, west nusa tenggara (NTB). *EurAsian J. Biosci.* 13, 303–307.

- Mouritsen, O., Rhatigan, P., Pérez-Lloréns, J.L., 2018. The rise of seaweed gastronomy: phycogastronomy. *Bot. Mar.* in press.
- Mouritsen, O.G., 2017. Those tasty weeds. *J. Appl. Phycol.* 29, 2159–2164. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0986-1>
- Munda, I.M., Kremer, B.P., 1977. Chemical composition and physiological properties of fucoids under conditions of reduced salinity. *Mar. Biol.* 42, 9–15. <https://doi.org/10.1007/BF00392009>
- Nascimento, A., Coelho-Gomes, C., Barbarino, E., Lourenço, S.O., 2014. Temporal variations of the chemical composition of three seaweeds in two tropical coastal environments. *Open J. Mar. Sci.* 04, 118–139. <https://doi.org/10.4236/ojms.2014.42013>
- Paiva, L., Lima, E., Neto, A.I., Marcone, M., Baptista, J., 2017. Nutritional and functional bioactivity value of selected azorean macroalgae: *Ulva compressa*, *Ulva rigida*, *Gelidium microdon* and *Pterocladia capillacea*. *J. Food Sci.* 82, 1757–1764. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13778>
- Patra, A.P., Patra, J.K., Mahapatra, S., Das, S., Swain, G.C., 2010. Seasonal Variation in Physicochemical Parameters of *Chilika Lake* after Opening of New Mouth near Gabakunda, Orissa, India. *World J. Fish Mar. Sci.* 2, 109–117.
- Pérez-Lloréns, J.L., Hernández, I., Vergara, J.J., Brun-Morillo, F., León, Á., 2016. *¿Las algas se comen? Un periplo por la biología, la historia, las curiosidades y la gastronomía*. Editorial UCA, Cádiz.
- Ratana-arporn, P., Chirapart, A., 2006. Nutritional evaluation of tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Ulva reticulata*. *Nat. Sci.* 40, 75–83.
- Sánchez-García, J., Palacios, V., Roldán, A., 2016. Nutritional potential of four seaweed species collected in the Barbate Estuary (Gulf of Cadiz, Spain). *J. Nutr. Food Sci.* 06, 4–10. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000505>
- Satpati, G.G., Pal, R., 2011. Biochemical composition and lipid characterization of marine green alga *Ulva rigida* a nutritional approach. *J. Algal Biomass Utln.* 2, 10–13.
- Suresh Kumar, K., Ganesan, K., Subba Rao, P. V., 2015. Seasonal variation in nutritional composition of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—an edible seaweed. *J. Food Sci. Technol.* 52, 2751–2760. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1372-0>
- Trigui, M., Gasmi, L., Zouari, I., Tounsi, S., 2013. Seasonal variation in phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of *Ulva rigida* (Chlorophyta) and assessment of antiacetylcholinesterase potential. *J. Appl. Phycol.* 25, 319–328. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9866-5>
- Wong, K., Cheung, P.C., 2000. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. *Food Chem.* 72, 11–17. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00176-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00176-X)
- Wong, W.H., Cheung, S.G., 2003. Seasonal variation in the feeding physiology and scope for growth of green mussels, *Perna viridis* in estuarine Ma Wan, Hong Kong. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* 83, 543–552. <https://doi.org/10.1017/S002531540300746Xh>
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H., 2011. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chem.* 128, 895–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.11>

## Índice de figuras

<b>Figura 6.1.</b> Obtención de biomasa del cultivo en cuerdas en La Salina La Esperanza .....	286
<b>Figura 6.2.</b> Cestas diseñadas para el cultivo de <i>Ulva</i> sp. y su colocación en el estero .....	287
<b>Figura 6.3.</b> Vista aérea de la Salina de Belén obtenida a través Google Earth .....	288
<b>Figura 6.4.</b> Sistema de cultivo de macroalgas .....	288
<b>Figura 6.5.</b> Apariencia de los fermentadores durante el proceso de fermentación .....	289
<b>Figura 6.6.</b> Productos finales obtenidos, bebida de algas .....	289

## Índice de tablas

<b>Tabla 6.1.</b> Propiedades nutricionales de diferentes <i>Ulva</i> spp. recolectadas en diferentes áreas .....	282
<b>Tabla 6.2.</b> Propiedades tecnológicas de diferentes <i>Ulva</i> spp. recolectadas en diferentes áreas .....	285





# Capítulo 7

## Conclusiones



*Imagen obtenida de Instagram (#algas marinas) por Thomas Leivat*

Finí Sánchez García

Tesis Doctoral

Capítulo 7



## 7. Conclusiones

- I. El alga *Ulva rigida* que se desarrolla en los esteros gaditanos presenta unas propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas que la hacen idónea para el consumo humano y para el desarrollo de formulaciones y nuevos productos a base de algas.
- II. La apertura y cierre de compuertas en los esteros para la obtención de sal y el despesque, hacen que las propiedades de *U. rigida* de estero varíen según la estación, lo que amplía sus posibilidades de uso y aplicaciones en el ámbito alimentario.
- III. Durante el almacenamiento de *U. rigida* a las temperaturas de 4 y 16 °C se produce una pérdida de frescura y calidad desde los primeros días, aunque los signos de alteración y deterioro no comienzan hasta los 8-10 días de conservación en función de la temperatura.
- IV. Durante el almacenamiento de *U. rigida* a 4 °C se ralentiza la pérdida de calidad y frescura, pudiéndose establecer su vida útil en una semana. A partir de ese momento las características fisicoquímicas y, sobre todo las sensoriales propias del alga fresca, se modifican de forma significativa en el tiempo. Asimismo, los compuestos volátiles y los aromas "marinos" característicos de *Ulva rigida* se mantienen durante más tiempo a 4 que a 16°C.
- V. Los tratamientos y tiempos de cocción modifican significativamente la estructura celular, el color, la composición nutricional y las características sensoriales de *Ulva* sp. La cocción por hervido es el tratamiento más agresivo mientras que la cocción al vacío mantiene e incluso favorece la disponibilidad de algunos componentes en comparación con el alga cruda.

- VI.** La cocción por hervido, al vapor y al vacío de *Ulva* sp. disminuyen los contenidos de los compuestos volátiles respecto al alga cruda, principalmente los de tipo aldehídicos y en los primeros minutos de cocción. Asimismo, estos tratamientos disminuyen los aromas a “costa/rocas” y “algas marinas” característicos de *Ulva* sp, mientras que aumentan los valores para los descriptores de “pescado cocido”, “pescado seco o salado” y “crustáceos”.
- VII.** Las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas de *Ulva* sp. han permitido el desarrollo de nuevos productos: mousse de algas, vinagre de Jerez aromatizado con algas, pesto marino, snacks de algas, galletitas de algas y hamburguesa vegana de algas, que han tenido una gran aceptación por diferentes grupos de consumidores y que generan posibilidades de una futura comercialización.
- VIII.** *Ulva* sp. de estero es un recurso viable para alimentación humana, tanto para el consumo directo como alga fresca, como para la elaboración de nuevos productos funcionales, nutritivos y saludables. Además, su recolección y posible cultivo en los esteros permitiría desarrollar una actividad sostenible en la Bahía de Cádiz que tendría posiblemente una enorme repercusión tanto social como económica.





2014-2019

## Contribuciones científicas



Imagen obtenida de Google imágenes, dibujo de *Ulva* sp.

**Fini Sánchez García**  
**Contribuciones científicas**  
**2014-2019**







**Fini Sánchez-García**

orcid.org/0000-0003-1119-2872

## Publicaciones científicas

**F. Sánchez-García**, A. Mirzayeva, A. Roldán, R. Castro, V. Palacios, C. García-Barroso, E. Durán-Guerrero (2019). Evolution of volatile compounds and sensory characteristics of edible Green seaweed (*Ulva rigida*) during storage at different temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99 (12), 5475-5482; doi: 10.1002/jsfa.9808.

R. Bermejo, M. Macías, C. L. Cara, **F. Sánchez-García**, I. Hernández (2019). Culture of *Chondracanthus teedei* and *Gracilariopsis longissima* in a traditional salina from southern Spain. *Journal of Applied Phycology*. 31, 561-53; doi: 10.1007/s10811-018-1516-0.

C. Barragán-Méndez, **F. Sánchez García**, I. Sobrino, J. M. Mancera, I. Ruiz-Jarabo (2018). Air exposure in catshark (*Scyliorhinus canicula*) modify muscle texture properties: a pilot study. *Fishes*. 3 (34), 1-11; doi: 10.3390/fishes3030034.

**F. Sánchez-García**, V. Palacios, A. Roldán (2016). Nutritional potential of four seaweed species collected in the Barbate estuary (Gulf of Cadiz, Spain). *Journal of Nutrition and Food Sciences*. 6 (3), 505; doi: 10.4172/2155-9600.1000505

## Publicaciones científicas en revisión

**F. Sánchez-García**, A. Mirzayeva, A. Roldán, R. Castro, V. Palacios, C. García-Barroso, E. Durán-Guerrero. Effect of different cooking methods on volatile compounds and sensory properties of sea lettuce (*Ulva rigida*) seaweed. En revisión en *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

R. Bermejo, M. Macías, C. L. Cara, **F. Sánchez-García**, I. Hernández. Growth rates of *Gracilariopsis longissima*, *Gracilaria bursa-pastoris* and *Chondracanthus teedei* (Rhodophyta) cultured in ropes: implication for N biomitigation in Cadiz Bay (Southern Spain). En revision en *Journal of Applied Phycology*.

## Propiedades intelectuales publicadas

Número de solicitud: 201700193

Fecha: 10.03.2017

Solicitante: Universidad de Cádiz

Número de publicación: 2681068

Fecha: 27.02.2019

País: España

Inventores: **F. Sánchez García**, V. Palacios, A. Roldán

Título: Aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas de estero y procedimiento de obtención

Resumen: Aderezo de vinagre de jerez aromatizado con algas de estero y procedimiento de obtención, donde se fusiona la acidez, la frescura y la potencia aromática y gustativa del vinagre de Jerez con las natas marinas, yodadas y minerales de las algas, lo que la hacen ideal para multitud de aplicaciones culinarias.

El área científica al que corresponde la invención es el área de tecnología de alimentos. El aderezo se obtiene mediante la maceración de algas de estero del género *Ulva* o *Gracilaria* (2-3%) en vinagre de jerez categoría "reserva" (97-98%) durante 24-48 horas a 20-25°C, en un depósito de acero inoxidable provisto de un sistema de control de temperatura, agitador de palas y un homogeneizador ultrasónico. El producto se decanta y se filtra por placas en profundidad antes de su envasado.

Número de solicitud: 201200405

Fecha: 12.04.2012

Solicitante: Universidad de Cádiz

Número de publicación: 2425606

Fecha: 05.02.2014

País: España

Inventores: **F. Sánchez García**, V. Palacios, A. Roldán

Título: Mousse de algas frescas

Resumen: Mousses de algas frescas de estero de las de las especies *Ulva* sp. (alga verde) y/o *Gracilaria* sp. (alga roja), recolectadas en los esteros del Parque Natural de la Bahía de Cádiz, junto con otros ingredientes complementarios (nata baja en grasa, aceite de oliva virgen, harina de trigo, flor de sal y lecitina de soja) en las proporciones adecuadas y por su característico proceso de elaboración.

La presente invención presenta un producto novedoso e innovador, muy distinto a los existentes en la actualidad, de elevada calidad sensorial, cuidada elaboración y de fácil consumo, siendo no sólo innovador en cuanto a la materia prima utilizada (algas de estero de la bahía de Cádiz) y sus ingredientes, sino también en cuanto al tipo de elaboración llevada a cabo para obtener la textura de mousse deseada.

Ambas patentes se han obtenido con examen previo.

## Aportaciones en congresos nacionales o internacionales

**F. Sánchez-García**, I. Hernández, V. Palacios, A. Roldán. Influencia de la temperatura de almacenamiento sobre la frescura de la lechuga de mar (*Ulva* sp. laminar) recolectada en los esteros de la bahía de Cádiz. Comunicación presentada en el I Congreso Internacional de Jóvenes Investigadores del Mar del 3 al 5 de octubre de 2018 en la Universidad de Cádiz-Ceimar.

M. Macías, **F. Sánchez-García**, R. Bermejo, I. Hernández. Influencia de variables ambientales sobre la coloración de *Gracilariopsis longissima* (Rhodophyta) y sus características nutricionales. Comunicación presentada en el I Congreso Internacional de Jóvenes Investigadores del Mar del 3 al 5 de octubre de 2018 en la Universidad de Cádiz-Ceimar.

**F. Sánchez-García**, M. J. Neira, I. Hernández, V. Palacios, A. Roldán. Influence of cooking processes on functional components of sea lettuce (*Ulva* sp. laminar). Comunicación presentada en el 1<sup>st</sup> Seaweed for Health del 24 al 27 de junio de 2018 en Galway, Irlanda.

I. Hernández, M. Macías, R. Bermejo, C. L. Cara, **F. Sánchez-García**, A. Roldán, V. Palacios. Field cultures of macroalgae in Cadiz bay: nutritional potential and environmental implication. The Ealga project. Comunicación presentada en el VI Simposio Internacional de Ciencias del Mar del 20 al 22 de junio de 2018 en la Universidad de Vigo.

**F. Sánchez-García**, I. Hernández, V. Palacios, A. Roldán. Comparativa del potencial alimentario de la lechuga de mar (*Ulva laminar* sp.) recolectada en dos zonas de la bahía de Cádiz (España). Póster presentado en el X Congreso Chileno de Micro y Macroalgas, del 18 al 21 de julio de 2017 en Coquimbo, Chile.

M. Macías, R. Bermejo, C. L. Cara, **F. Sánchez-García**, I. Hernández. Cultivation of algae in estuaries of the province of Cadiz by rope system. Póster presentado en el V Simposio Internacional de Ciencias del Mar, del 20 al 22 de julio de 2016 en la Universidad de Alicante.

C. L. Cara, M. Macías, **F. Sánchez-García**, R. Bermejo, I. Hernández. Algae culture system using ropes in the Bay of Cadiz. Póster presentado en el V Simposio Internacional de Ciencias del Mar, del 20 al 22 de julio de 2016 en la Universidad de Alicante.

**F. Sánchez-García**, R. Bermejo. Macroalgal outdoor cultivation in the bay of Cadiz and its importance for the food industry. Comunicación presentada en Advancing knowledge on seaweed growth and development, del 15 al 16 de febrero de 2016 en Kavala, Grecia.

I. Hernández, R. Bermejo, **F. Sánchez-García**, M. Macías, C. L. Cara, J. L. Pérez-Llorens, J. J. Vergara, A. Roldán, V. Palacios. Macroalgal culture in the bay of Cadiz (Spain): Possibilities and perspectives. Póster presentado en Sixth European Phycological Congress, del 23 al 29 de agosto de 2015 en la Universidad de Londres, Reino Unido.

**F. Sánchez-García**, I. Martínez, V. Palacios, A. Roldán. Comparative study of chemical composition and caloric value of *Ulva* spp. Collected in two different areas of the Bay of Cadiz. Comunicación presentada en el IV Simposio Internacional de Ciencias del Mar y XVII Seminario Ibérico de Química Marina, del 11 al 13 de junio de 2014 en la Universidad de las Palmas de Gran Canaria.

I. Martínez, **F. Sánchez-García**, V. Palacios, A. Roldán. Evaluation of freshness of two seaweed species (*Ulva* sp. and *Codium* sp.) collected in Gulf of Cadiz. Póster presentado en el IV Simposio Internacional de Ciencias del Mar y XVII Seminario Ibérico de Química Marina, del 11 al 13 de junio de 2014 en la Universidad de las Palmas de Gran Canaria.

### Co-dirección Trabajos de Fin de Grado y Fin de Máster

- Estudio de la influencia de diferentes métodos de cocción sobre las propiedades nutricionales y funcionales del alga *Ulva* sp. María José Neira Rosado. Previsto febrero 2020. Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. Trabajo Fin de Máster dirigido por Ana Roldán y Fini Sánchez García.
- Propiedades tecnológicas de algas comerciales y posibles usos. Maryam Yamini. Septiembre 2018. Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. Trabajo Fin de Máster dirigido por Ana Roldán y Fini Sánchez García.
- Influencia del empleo de SO<sub>2</sub> e inóculo de bacterias lácticas sobre el desarrollo de la fermentación y características de una bebida a base de algas. Paula Sánchez Buzón. Julio 2018. Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. Trabajo Fin de Grado dirigido por Ana Roldán y Fini Sánchez García.
- Estudio sobre el uso de algas de estero en la clarificación y estabilización proteica de los vinos. Miriam Copano Benítez. Diciembre 2017. Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. Trabajo Fin de Grado dirigido por Ana Roldán y Fini Sánchez García.

### Organización de actividades de I+D+i

**I Congreso Internacional de Jóvenes Investigadores del Mar.** Cádiz, Andalucía (España). Campus de Excelencia Internacional del Mar (CEI-MAR), Universidad de Cádiz. Del 3 al 5 de octubre de 2018. Miembro del Comité Organizador del Congreso.

